# Spasmolytische Wirkung ethanolischer Extrakte von Pericarpium Aurantii, Fructus Carvi, Flores Chamomillae, Fructus Foeniculi und Folia Menthae auf die durch Acetylcholin, Carbachol und Histamin hervorgerufene Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums.

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Hubert B. Forster
aus Mindelheim

1979

# Spasmolytische Wirkung ethanolischer Extrakte von Pericarpium Aurantii, Fructus Carvi, Flores Chamomillae, Fructus Foeniculi und Folia Menthae auf die durch Acetylcholin, Carbachol und Histamin hervorgerufene Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums.

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Hubert B. Forster
aus Mindelheim

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Mai 1979

Dekan: Prof. Dr. M. Hanack

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H.P.T. Ammon
2. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Reinhard

Hornuß + Forster · Offsetdruck · VS-Villingen

Meiner Frau und meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536516_0050

Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen, Lehrstuhl für Pharmakologie, unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H.P.T. Ammon in der Zeit von Oktober 1974 bis Juni 1978 angefertigt.

Herrn Prof. Dr. H.P.T. Ammon danke ich für die Überlassung des Themas, für die intensive Betreuung und das stete Interesse am Fortgang dieser Arbeit.

# I N H A L T S V E R Z E I C H N I S


| | | |
|---|---|---|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 1.1. | Die normale Motorik des Dünndarms | 1 |
| 1.2. | Spasmen des Magen-Darm-Traktes und deren Auslösung | 4 |
| 1.3. | Pflanzliche Spasmolytica | 6 |
| 1.4. | Fragestellung | 10 |
| 2. | Methodik | 12 |
| 2.1. | Material | 13 |
| 2.1.1. | Chemikalien | 13 |
| 2.1.2. | Lösungen | 14 |
| 2.1.3. | Pflanzenextrakte | 18 |
| 2.2. | Präparation des isolierten Meerschweinchen-ileums | 20 |
| 2.2.1. | Versuchstiere | 21 |
| 2.2.2. | Präparation | 21 |
| 2.3. | Apparatur | 24 |
| 2.3.1. | Organbad | 24 |
| 2.3.2. | Prinzip der Registrierung | 27 |
| 2.4. | Versuche zur Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums | 29 |
| 2.4.1. | Wirkung von Acetylcholin und Histamin bei Anwesenheit der Pflanzenextrakte (Vorbehandlung) | 29 |

2.4.1.1. Prüfung auf Reversibilität der Kontraktionshemmung 31
2.4.2. Wirkung von Carbachol (kumulative Dosis-Wirkungs-Kurven) 32
2.4.2.1. Einfluß der Pflanzenextrakte auf eine bereits durch Carbachol ausgelöste Kontraktion (Nachbehandlung) 33
2.4.2.2. Untersuchungen zur Ermüdbarkeit des isolierten Meerschweinchenileums bei wiederholter Gabe von Carbachol 34
2.4.2.3. Prüfung auf Reversibilität der Hemmung der Carbacholkontraktion durch die Pflanzenextrakte 36
2.5. Methoden der Versuchsauswertung 37
2.6. Statistische Methoden 40

3. Versuchsergebnisse 44
3.1. Allgemeines 44
3.2. Auslösung der Kontraktion durch Acetylcholin 46
3.2.1. Einfluß von Atropin 46
3.2.2. Einfluß von Ethanol 53
3.2.3. Einfluß von Extractum Aurantii 56
3.2.4. Einfluß von Extractum Carvi 61
3.2.5. Einfluß von Extractum Chamomillae 61
3.2.6. Einfluß von Extractum Foeniculi 65
3.2.7. Einfluß von Extractum Menthae 65
3.2.8. Einfluß von Carminativum 69

3.2.9. Einfluß von Carminativum Hetterich 70
3.2.10. Quantitativer Vergleich der Hemmwirkung der Extrakte auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion 76
3.3. Prüfung auf Reversibilität der Wirkung von Carminativum 83
3.4. Auslösung der Kontraktion durch Histamin 91
3.4.1. Einfluß von Extractum Aurantii 91
3.4.2. Einfluß von Extractum Carvi 95
3.4.3. Einfluß von Extractum Chamomillae 95
3.4.4. Einfluß von Extractum Foeniculi 99
3.4.5. Einfluß von Extractum Menthae 99
3.4.6. Quantitativer Vergleich der Hemmwirkung der Extrakte auf die durch Histamin ausgelöste Kontraktion 103
3.5. Auslösung der Kontraktion durch Carbachol 106
3.5.1. Spontane Kontraktionsverminderung eines unbehandelten Darmstücks 106
3.5.2. Hemmung einer bereits bestehenden Kontraktion durch nachträglichen Zusatz von Pflanzenextrakten, Carminativum und Ethanol 109
3.5.3. Prüfung auf Reversibilität der Hemmwirkung 120

4. Diskussion 125
4.1. Pharmakotherapie des spastischen Schmerzes und Wirkungsmechanismus chemisch definierter Spasmolytica 125

4.1.1. Neutrop wirkende Spasmolytica 125
4.1.2. Muskulotrop wirkende Spasmolytica 127
4.2. Spasmolytische Wirkung der Pflanzenextrakte 128
4.2.1. Spasmolytische Wirkung von Extractum Aurantii, Extractum Carvi, Extractum Chamomillae, Extractum Foeniculi und Extractum Menthae 129
4.2.2. Quantitativer Vergleich der Hemmwirkung der Extrakte mit der des Atropins 131
4.2.3. Ethanol 132
4.3. Reversibilität 133
4.4. Nachbehandlung mit den Pflanzenextrakten 134
4.5. Additive Wirkung der Pflanzenextrakte 135
4.6. Vergleich der Wirkungsstärke der Extrakte aus Pericarpium Aurantii, Fructus Carvi, Flores Chamomillae, Fructus Foeniculi und Folia Menthae 136
4.7. Lokale Wirkung der Pflanzenextrakte 137

5. Zusammenfassung 139

Literaturverzeichnis 142

# 1. E I N L E I T U N G

## 1.1. Die normale Motorik des Dünndarms

Die Peristaltik des Darmes, die den Darminhalt fortbewegt, durchmischt und damit die Resorption fördert, beruht auf seiner Fähigkeit Reize für die Kontraktion autonom zu bilden. Die Erregungsbildung erfolgt in der glatten Muskulatur spontan, sie wird durch die Innervation mit vegetativen Nerven lediglich intensiviert, abgeschwächt oder synchronisiert, ist aber nicht primär durch neurale Einflüsse ausgelöst, d.h. die Muskelzelle ist selbst zur Erregungsbildung befähigt (SCHNEIDER 1973). Nach SCHNEIDER (1973) unterliegt die Koordination der verschiedenen Rhythmen der Längs- und Ringmuskulatur des Darmes der Kontrolle durch den Plexus myentericus (AUERBACH). Die Zottenbewegungen dagegen unterliegen der Kontrolle des Plexus submucosus (MEISSNER), der auch für die Überleitung nervöser Erregungen auf die Darmdrüsen sorgt.

Nach HOFF (1962) werden dagegen die Bewegungsabläufe der glatten Muskulatur des ganzen Verdauungsschlauches durch ein intramurales System vegetativer Nerven (Plexus myentericus und submucosus) ausgelöst.

Den Hauptreiz für die Darmmotorik bildet die Dehnung der Darmwand, die zusätzlich nervös und humoral modifiziert wird. Die Dehnung einer glatten Muskelfaser führt zu ihrer Depolarisation und damit zur Auslösung einer Erregung, die dann eine Kontraktion bewirkt. Die weitere Erregung benachbarter Muskelfasern und damit die Fortleitung der Kontraktion, erfolgt entweder unmittelbar dadurch, daß immer wieder einzelne Muskelzellen mit anderen in direktem Kontakt sind, oder durch Dehnung der Nachbarfasern bei der Kontraktion, die sich dann ihrerseits wieder kontrahieren (mechanische Fortleitung) (SCHNEIDER 1973).

Es ergeben sich drei verschiedene Bewegungsformen:
- Die Peristaltik, bei der die Kontraktion coecalwärts wandert, die Hauptmasse des Darminhalts coecalwärts schiebend. Diese Bewegungen dienen vorwiegend dem Transport.
- Die rhythmische Segmentierung, die den Darminhalt durchmischt.
- Die Pendelbewegungen durch Kontraktion der Längsmuskulatur, durch die der Darminhalt hin- und hergeschoben wird und in engeren Kontakt mit der Darmschleimhaut gerät.

Die autonome Tätigkeit der Darmmuskulatur wird überlagert durch nervöse Faktoren von Seiten des Sympathicus und Parasympathicus, wobei der Parasympathicus ein deutliches Übergewicht aufweist. Durch Reizung des Parasympathicus wird der Tonus und die Motilität des Darmes verstärkt, durch Reizung des Sympathicus gehemmt.

Ist der Tonus der Darmmuskulatur unter dem Einfluß des N. vagus groß, genügt bereits ein geringer Füllungsdruck, um lebhafte Darmbewegungen hervorzurufen. Ist der Reiz des N. splanchnicus größer, und der Darm damit erschlafft, kann auch eine stärkere Dehnung keine Peristaltik veranlassen. Die Innervation tritt jedoch hinter der Bedeutung der Autonomie der glatten Muskulatur des Darmes zurück.

Die Kontraktion glatter Muskelzellen erfolgt durch das Gleiten von Actin zwischen Myosinfäden (PROSSER 1974), das durch die intrazelluläre Erhöhung von $Ca^{2+}$ ausgelöst wird. Aus Grana im sarkoplasmatischen Reticulum werden bei Eintreffen einer Erregung (Depolarisation der Zellmembran) Calcium-Ionen abgegeben, die die Myofibrillen-ATPase aktivieren. Durch den ATP-Zerfall wird Energie frei und es kann eine Kontraktion erfolgen. Während der Erschlaffung (Repolarisation der Zellmembran) werden die Calcium-Ionen aktiv in die Grana rückgespeichert und der Hemmstoff der Myofibrillen-ATPase

wird wieder aktiviert (SOMLYO, SOMLYO 1970, SCHNEIDER 1973).

## 1.2. Spasmen des Magen-Darm-Traktes und deren Auslösung

Subjektiv empfundene oder objektiv festgestellte Schmerzen glattmuskulärer Organe können ganz verschiedene komplexe Äthiologien besitzen und äußern sich als Krampf oder Kolik, Druckgefühl, Blähung, Unbehagen und Brennen (HAFTER 1978). Da es sich um einen nicht kontinuierlichen visceralen Schmerz handelt, ist er diffus und nicht leicht zu lokalisieren. Eine plötzlich einsetzende, intensive Dehnung der Darmwand führt zu Krämpfen und Koliken. Häufig wird diese Dehnung durch Darmgase ausgelöst, die entweder in abnormer Menge gebildet werden oder deren Passage behindert ist. Diese Symtome können auch bei fehlendem Gasgehalt des Darmes beobachtet werden und werden dann von einem erhöhten Tonus hervorgerufen.

Ebenfalls Ausdruck einer vermehrten Dehnung sind Druckgefühl, Blähung oder Unbehagen. In diesem Fall ist die Dehnung weniger plötzlich, dafür aber anhaltender. Diese Symtome unterscheiden sich nur quantitativ vom visceralen Schmerz und können in ihn übergehen. Sie können auftreten bei alimentärer Überfüllung, bei vermehrtem Gasgehalt (z.B. durch Aerophagie), bei Hypersekretion, bei behindertem Abfluß, durch erhöhten Innen-

druck bei gesteigertem Tonus oder durch Absinken der Perzeptionsschwelle bei normalen Druckverhältnissen z.B. durch entzündliche Veränderungen der Schleimhaut, so daß schon physiologische Druckerhöhungen Beschwerden verursachen können. (HAFTER 1978).

Nach Schmerzen und Obstipation ist der Meteorismus das häufigste Darmsymptom. Dieser vermehrte Gasgehalt des Darmes entsteht bei Störung des Gleichgewichts zwischen Gaszufuhr bzw. intestinaler Gasbildung einerseits und Absorption bzw. Elimination andererseits. Blähungen können entstehen durch Luftschlucken, bei übersteigerter Gasbildung im Darm, gestörter Gasresorption und bei Hemmung der Darmpassage (HAFTER 1978). Bei vielen Menschen, insbesondere bei Säuglingen führt die bakterielle Zersetzung von vergärbarer Nahrung oder Fäulnis von Eiweißbestandteilen zu pathologischen Gasansammlungen, die über epigastrisches Unbehagen, Blähungen und Völlegefühl bis zu schmerzhaften Spasmen führen können (EICHHOLTZ 1951).

Wenn aber der Darm spastisch verkrampft ist, kann er die normalen peristaltischen Bewegungen nicht mehr genügend durchführen und die Gasansammlung wird nur schlecht weitertransportiert (HELWIG 1973). Um den Weitertransport zu erleichtern ist es daher angezeigt, den Spasmus durch medikamentöse Behandlung aufzuheben.

## 1.3. Pflanzliche Spasmolytica

Drogen mit einem Gehalt an ätherischen Ölen werden in Medizin und Volksmedizin schon lange (z.B. Kamille von Paracelsus u.a. gegen Grimmen (nach MADAUS 1938)) gegen Kolikschmerzen, Krämpfe und Blähungen und damit verbundenen Schmerzen verwendet.

ERHART und RUSCHIG (1972) führen unter "Carminativa" auf, daß Tees oder Tinkturen vorwiegend aus folgenden Pflanzen (bzw. Pflanzenteilen) zur Anwendung kommen:

Flores Chamomillae (Kamillenblüten)
Folia Menthae piperitae (Pfefferminzblätter)
Fructus Carvi (Kümmel)
Fructus Foeniculi (Fenchel)
Fructus Coriandri (Koriander)
Fructus Anisi (Anis)
Folia Salviae (Salbei)
Flores Lavandulae (Lavendel)
Allium sativum (Knoblauch)
Fructus Caryophylli (Nelken)

Von ihnen wird behauptet, daß sie dämpfend auf die glatte Muskulatur des Verdauungsapparates einwirken. Durch Herabsetzen des erhöhten Tonus bzw. Lösen der Spasmen der Darmmuskulatur können die störenden Blähungen abgegeben oder resorbiert werden. Vielfach werden durch die Carminativa auch die spastischen Ne-

benwirkungen, die durch Anthrachinonlaxantien entstehen können, kompensiert (HELLWIG 1973, ERHART, RUSCHIG 1972).

Viele Standardwerke über Arzneidrogen erwähnen die spasmolytischen Eigenschaften von Kamille, Pfefferminze, Kümmel, Fenchel oder Pomeranzenschalen, nennen aber kaum Literatur, aus der diese Wirkungen nachweislich abzuleiten sind und, falls Angaben vorhanden sind, dann beziehen sie sich hauptsächlich auf Arbeiten vor dem Jahr 1950. Diese geben aber praktisch keine Auskunft über quantitative Aspekte der Spasmolyse. Auch bei HOPPE (1975), der eine größere Zahl von Arbeiten zitiert, fehlen, zumindest bei den hier untersuchten Drogen meist Angaben über die quantitativen Aspekte, insbesondere auch im Vergleich zu bekannten Referenzsubstanzen. Die meisten Arbeiten beschäftigen sich mit Isolierung und Identifizierung von Inhaltsstoffen und Unterschieden zwischen den einzelnen Arten ohne jedoch die pharmakologische Relevanz zu berücksichtigen. So beklagt SCHAETTE (1971) der selbst spasmolytische Wirkungen von Auszügen aus Radix Valerianae gefunden hat, den Mangel an pharmakologischen Arbeiten über diese Wirkungen und zitiert nur drei Publikationen aus neuerer Zeit, die sich mit diesem Aspekt des Baldrians auseinandersetzen. STOLL et al. (1957) beschreiben eine 2,5 mal stärker spasmolytische Wirkung von Valenol gegenüber Papaverin am isolierten Kaninchendünndarm. DELPHAUT (1956) be-

richtet über eine Wirksamkeit von "aldéhyde isovaléri-anique" und "valérianate de bornyl" gegen Bariumchlorid, Pilocarpin und Acetylcholin in einer Verdünnung von 1:1000. ROSECRANS et al. (1961) finden eine relaxierende Wirkung einer bestimmten Extraktfraktion in niedriger Konzentration (0,0071%) auf glatte Muskulatur.

Stärkere Aktivitäten sieht man bei Untersuchungen neuerer, noch weniger in unseren Arzneischatz eingeführter Pflanzen oder bei indischen oder afrikanischen Pflanzen, die daraufhin untersucht wurden, ob sie einen Einfluß z.B. auf den Blutdruck und die Blutgefäße, das Herz und den Uterus ausüben oder spasmolytische Aktivitäten am Gastro-Intestinal-Trakt zeigen. Als willkürliche Beipiele seien hier Arundo Donax L. (Graminae) (GHOSAL, DUTTA 1969), Panax Ginseng C. A. Meyer (KAKU et al. 1975 und viele weitere), oder Daucus carota L. (DHAR et al. 1975) erwähnt. Über Asaron und das ätherische Öl von Acorus Calamus L. berichten DAS et al. (1962), die auch die Wirkung auf das experimentelle Asthma von Meerschweinchen untersucht haben. Beim experimentellen Asthma hat Asaron eine hemmende Wirkung auf Aerosole von Acetylcholin und Histamin. Es werden $ED_{50}$-Werte für Asaron (19 µg/l) und das ätherische Öl (26 µg/l) gegenüber Acetylcholin am isolierten Meerschweinchenileum angegeben.

CHOPRA et. al. (1954) erwähnen, ohne Zahlenangaben, leichte spasmolytische Wirkungen der ätherischen Öle von Acorus calamus, Curucuma zedoria, Xanthoxylum alatum und Angelica archangelica am Kaninchenintestinum in vitro gegen Acetylcholin- und Bariumchloridspasmen.

Für die in dieser Arbeit untersuchten Drogen nennt MADAUS in seinem "Lehrbuch der biologischen Heilmittel" (1938) folgende Indikationen:

PERICARPIUM AURANTII: Karminativum, Blähungen, Koliken, Magenkrämpfe, spastische Erscheinungen (am Verdauungsapparat) u.a.

FRUCTUS FOENICULI: Chronische Obstipation mit Blähungen, Flatulenz mit Kolik, Magen- und Darmkrämpfe u.v.a.

FOLIA MENTHAE PIP.: "Menthae piperiata ist in erster Linie bei schmerzhaften Krämpfen der Gastrointestinalorgane und bei Flatulenz indiziert. ..."

FRUCTUS CARVI: Stomachicum und Karminativum bei Flatulenz, Meteorismus, Magenkrämpfen u.a.
BERGER (1953) gibt hierzu an: als krampfstillendes Mittel, bei Krämpfen, Koliken u.a.

FLORES CHAMOMILLAE: Bei spasmophilen Zuständen, Koliken, Magenkrämpfen, Colonspasmen u.a.

WEISS (1974) schreibt, daß kein Zweifel an der spasmolytischen Wirkung der Kamille besteht und nennt sie "entzündigungswidrig, krampfstillendund karminativ", wobei er enge Beziehungen des karminativen zum krampf-

stillenden Effekt annimmt. KREITMAIR (1951) führt die spasmolytischen Eigenschaften der Kamille auf ein Glycosid zurück, das den Muskarinkrampf des Kaninchendarmes löst und in größeren Mengen die glatte Muskulatur lähmt. BREINLICH (1968) fand ausgeprägte spasmolytische Aktivitäten des EN-IN-Dicycloäthers (2-Hexa-(2,4)-diin-1-yliden-1,6-dioxaspiro 4,4 non-3-en), der bei einer 95%igen Hemmung des Acetylcholinspasmus am isolierten Meerschweinchenileum 46 mal wirksamer ist als Papaverin (Konzentrationsangaben in µg/ml).

## 1.4. Fragestellung

Über quantitative Aspekte pflanzlicher Spasmolytica, insbesondere im Vergleich zu Atropin, gibt es bisher nur wenig verwertbares wissenschaftliches Material. Es sollte daher in dieser Arbeit insbesondere der quantitative Aspekt der kontraktionshemmenden Wirkung durch alkoholische Extrakte von

Carum Carvi L. (Fructus Carvi)
Citrus aurantium L. ssp. aurantium (Pericarpium Aurantii)
Foeniculum vulgare Miller (Fructus Foeniculi)
Matricaria chamomilla L. (Flores Chamomillae)
Mentha piperita L. (Folia Menthae)

im Vergleich zum sehr gut untersuchten Atropin ermittelt werden. Dazu ein Industrieprodukt, das die alkoholischen Auszüge dieser Pflanzen enthält.

Im Einzelnen sollten folgende Fragen bearbeitet werden:

1. Können ethanolische Extrakte dieser officinellen Pflanzenteile die durch Acetylcholin oder Histamin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchen-ileums bei vorheriger Zugabe hemmen?
2. Wie stark ist diese Wirkung im Vergleich zu Atropin?
3. Ist diese Wirkung reversibel?
4. Kann eine schon bestehende, durch Carbachol ausgelöste Kontraktion vermindert oder aufgehoben werden?
5. Läßt sich eine Reihenfolge der verwendeten Extrakte hinsichtlich ihrer Wirkungsstärke ermitteln und sind die Effekte in der Kombination additiv, überadditiv oder schwächer?

## 2. METHODIK

Eine bewährte Methode zur Untersuchung von darmwirksamen Substanzen ist das isolierte überlebende Meerschweinchenileum.

Die verhältnismäßig dünne Darmmuskulatur ermöglicht eine ausreichende Sauerstoff- und Glucoseversorgung durch Diffusion aus einer Nährlösung, so daß das Organ über längere Zeit hinweg durch geeignete Agonisten zur Kontraktion gebracht werden kann. Zudem hat das Meerschweinchenileum den Vorteil, daß es relativ wenig Spontanaktivität zeigt. Die Registrierung hat meist eine ruhige, stabile Grundlinie. Es können durch Verwendung mehrerer Darmstücke desselben Tieres, bei Einsatz nur eines Versuchstieres mehrere Ergebnisse gewonnen werden. Dabei zeigte sich aber, daß trotz der Herkunft aus einem Tier die einzelnen Darmabschnitte gegen die Agonisten verschieden stark empfindlich waren.

Die Untersuchung von Arzneistoffen an isolierten Organen besitzt gegenüber der am Ganztier den Vorteil größerer Einfachheit. Diese in-vitro-Ergebnisse können aber nicht immer ohne weiteres auf das Ganztier oder den Menschen übertragen werden. Z.B. kann eine Substanz in vitro wirken, während sie in vivo infolge enzymatischen Abbaus, mangelnder Resorption o.ä. nicht zur Wirkung kommt. Andererseits werden Einflüsse der Bio-

transformation (Resorption, Metabolismus und Ausscheidung) ausgeschaltet, was von Vorteil ist, wenn z.B. Wirkungsmechanismen untersucht werden sollen.

Zustände mit gesteigertem Tonus lassen sich im Experiment durch Bariumchlorid hervorrufen, das durch direkten Angriff an der Zelle zur spastischen Kontraktion glatter Muskelfasern führt. (ERHART, RUSCHIG 1972) Eine andere Möglichkeit um bei cholinerg innervierten Organen den Muskeltonus zu erhöhen ist die Gabe von Acetylcholin oder von Carbamoylcholin (Carbachol), was über Erregung von Acetylcholinrezeptoren zu Kontraktionen führt. Hiermit wird der Parasympathicustonus bis zur Auslösung von Krämpfen gesteigert. Eine dritte Substanz, die geeignet ist, an glatten Muskeln Kontraktionen hervorzurufen, ist das Histamin, das wie Acetylcholin über einen spezifischen Rezeptor wirkt. Es kommt sowohl physiologisch als auch pathogen im Darm vor und eignet sich deshalb für Untersuchungen über Spasmolyse wie auch für Antihistaminica.

## 2.1. Material

### 2.1.1. Chemikalien

D(+)-Glukose, wasserfrei p. a. Serva, Heidelberg
Acetylcholinchlorid J.P. VIII, Ph. Franç. IX

Äthanol absolut p. a.

Atropiniumsulfat, fein gepulvert DAB 7 etc.

Calciumchlorid-2-hydrat p.a.

Carbamoylcholinhydrochlorid B.P 1973 etc.

D(+)-Glukose (Monohydrat), für biochemische und mikrobiologische Zwecke

Histamindihydrochlorid DAB 7

Kaliumchlorid p. a.

Kaliumdihydrogenphosphat p.a.

Magnesiumsulfat ($MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$) p. a.

Natriumchlorid p.a.

Natriumhydrogencarbonat reinst

Alle von der Fa. Merck, Darmstadt

### 2.1.2. Lösungen

Krebs-Henseleit-Lösung

Es wurde die Krebs-Henseleit-Lösung nach der Originalbeschreibung von 1932 verwendet (KREBS 1932). Damit ergaben sich folgende Endkonzentrationen an Elektrolyten:

| | | | |
|---|---|---|---|
| $Na^+$ | 3,29 g/l | ≙ | 143 mM |
| $K^+$ | 229 mg/l | ≙ | 5,68 mM |
| $Ca^{2+}$ | 101 mg/l | ≙ | 2,52 mM |
| $Mg^{2+}$ | 28,6 mg/l | ≙ | 1,18 mM |
| $Cl^-$ | 4,53 g/l | ≙ | 128 mM |
| $HPO_4^{2-}$ | 113 mg/l | ≙ | 1,17 mM |

| | | | |
|---|---|---|---|
| $SO_4^{2-}$ | 113 mg/l | ≙ | 1,18 mM |
| $HCO_3^-$ | 1,52 g/l | ≙ | 25 mM |
| Glukose | 1 g/l | ≙ | 5,5 mM |

$CO_2$-, $O_2$-Sättigung

ph 7,4

Um diese Ionenkonzentrationen zu erreichen, wurden pro Liter folgende Mengen eingewogen:

2,1 g $NaHCO_3$

1 g Glukose

Diese beiden Stoffe wurden jeder für sich gelöst und erst dann der Lösung der restlichen Salze zugefügt.

6,9 NaCl

0,35 KCl

0,37 $CaCl_2 \cdot 2\ H_2O$

0,16 $KH_2PO_4$

0,29 $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$

Acetylcholinlösung:

Für die Acetylcholinlösung wurden 50,9 mg Acetylcholinchlorid = 40,96 mg Acetylcholin (Kation) in 1o ml physiologischer Natriumchloridlösung gelöst. Aus dieser Stammlösung wurde eine Verdünnungsreihe derart hergestellt, daß, um die gewünschte Endkonzentration zu erreichen, jeweils 0,1 ml den 10 ml Nährmedium im Organbad zugefügt werden mußten. Die Endkonzentrationen im Organbad betrugen dann:

| | | |
|---|---|---|
| 2,5 µg/l | ≙ | $1{,}7 \times 10^{-8}$ M |
| 10,0 µg/l | ≙ | $6{,}8 \times 10^{-8}$ M |
| 40,0 µg/l | ≙ | $2{,}7 \times 10^{-7}$ M |
| 160 µg/l | ≙ | $1{,}1 \times 10^{-6}$ M |
| 640 µg/l | ≙ | $4{,}4 \times 10^{-6}$ M |
| 2560 µg/l | ≙ | $1{,}75 \times 10^{-5}$ M |
| 10 240 µg/l | ≙ | $7{,}0 \times 10^{-5}$ M |

Die Verdünnungsreihe wurde täglich frisch hergestellt, während die Stammlösung in entsprechenden Portionen bei $-18^{\circ}$ C eingefroren wurde.

Histaminlösung:

Genauso wurde mit den Histaminlösungen verfahren. Für die Histamin-Stammlösung wurden 67,84 mg Histamin-2-hydrochlorid = 40,96 mg Histamin pro 10 ml eingewogen. Die Endkonzentrationen auf µg-Basis im Bad waren die gleichen wie beim Acetylcholin:

| | | |
|---|---|---|
| 2,5 µg/l | ≙ | $2{,}25 \times 10^{-8}$ M |
| 10,0 µg/l | ≙ | $9{,}0 \times 10^{-8}$ M |
| 40,0 µg/l | ≙ | $3{,}6 \times 10^{-7}$ M |
| 160 µg/l | ≙ | $1{,}44 \times 10^{-6}$ M |
| 640 µg/l | ≙ | $5{,}8 \times 10^{-6}$ M |
| 2 560 µg/l | ≙ | $2{,}3 \times 10^{-5}$ M |
| 10 240 µg/l | ≙ | $9{,}2 \times 10^{-5}$ M |

Carbachollösung:

Für die Carbachollösung wurden 153,5 mg Carbamoylcholinhydrochlorid (= 122,88 mg Carbamoylcholin) in 10,0 ml isotonischer Natriumchloridlösung gelöst. Diese Stammlösung wurde eingefroren und bei Bedarf so verdünnt, daß sich folgende Konzentrationen ergaben:
0,0625; 0,1875; 0,75; 3,0; 12,0; 48,0 mg/l.
Bei Zugabe von je 0,1 ml dieser Carbachollösungen zu 10 ml Badflüssigkeit (ohne zwischengeschalteten Spülvorgang) ergaben sich nachstehende Endkonzentrationen an Carbachol:

| 0,1 ml Carbachollösung von: | ergibt in 10 ml Badflüssigkeit | Endkonzentration: |
|---|---|---|
| 0,0625 mg/l | 0,625 µg/l | $\hat{=}$ 4,25 x $10^{-9}$ M |
| + 0,1875 mg/l | 2,5 µg/l | $\hat{=}$ 1,7 x $10^{-8}$ M |
| + 0,75 mg/l | 10,0 µg/l | $\hat{=}$ 6,8 x $10^{-8}$ M |
| + 3,0 mg/l | 40,0 µg/l | $\hat{=}$ 2,7 x $10^{-7}$ M |
| + 12,0 mg/l | 160 µg/l | $\hat{=}$ 1,1 x $10^{-6}$ M |
| + 48,0 mg/l | 640 µg/l | $\hat{=}$ 4,4 x $10^{-6}$ M |

Die Endkonzentrationen im Bad waren somit die gleichen wie bei der Einzelschrittechnik.

Ethanollösung:

Zur Kontrolle eines Einflußes von Ethanol auf die spasmolytischen Wirkungen der Pflanzenextrakte wurde auch Ethanol der Krebs-Henseleit-Lösung zugesetzt. Der der

Versorgung des Darmstückes dienenden Krebs-Henseleit-Lösung wurde absolutes Ethanol in Mengen von 1,5 und 3,0 ml/l zugesetzt. Das entspricht den Ethanolkonzentrationen von 5,0 bzw. 10,0 ml/l Pflanzenextrakt.

Atropinlösung:

Zum Vergleich mit einem Standardspasmolyticum wurden auch Versuche mit atropinhaltiger Nährlösung durchgeführt.

Atropin, der kompetitive Antagonist des Acetylcholins, wurde als Atropinsulfat in der Krebs-Henseleit-Lösung gelöst. Es ergaben sich, bezogen auf die Atropinbase, Endkonzentrationen im Bad von 0,1; 1,0 und 10,0 µg/l, das entspricht 0,12; 1,2 und 12,0 µg/l Atropinsulfat.

### 2.1.3. Pflanzenextrakte

Folgende Pflanzenfluidextrakte 1:3,5 wurden von uns verwendet:

Extractum Chamomillae (Kamillenextrakt)
Extractum Menthae piperitae (Pfefferminzextrakt)
Extraktum Carvi (Kümmelextrakt)
Extractum Foeniculi (Fenchelextrakt)
Extractum Aurantii (Pomeranzenschalenextrakt)

Die Extrakte enthielten im Durchschnitt 3o % Ethanol (ml/ml). 1 Teil Droge wurde in Reihenperkolation mit 3,5 Teilen Ethanol 31 % (g/g) extrahiert.

Von der Fa. Hetterich erhielten wir eine Arzneispezialität "Carminativum-Hetterich (R)"* mit der Bitte um Prüfung auf spasmolytische Wirkung. Carminativum-Hetterich war zur Zeit dieser Untersuchungen mit folgender Zusammensetzung im Handel:

1 g Carminativum-Hetterich enthält 1g alkoholischen Auszug aus folgenden Drogen:

| | |
|---|---|
| Flores Chamomillae | 24 mg |
| Folia Melissae | 30 mg |
| Folia Menthae piperitae | 24 mg |
| Fructus Carvi | 30 mg |
| Fructus Coriandri | 12 mg |
| Fructus Foeniculi | 18 mg |
| Herba Anserinae | 36 mg |
| Herba Basilici | 42 mg |
| Pericarpium Aurantii | 30 mg |
| Rhizoma Calami | 42 mg |

Auszugsmittel: Ethanol 31 % (g/g)

Herstellung: Reihenperkolation

Weiterhin stand uns ein Präparat "Carminativum"** zur Verfügung mit folgender Zusammensetzung:

---

* Hersteller: Galenika Dr. Hetterich GmbH, Fürth/Bay.

** Hersteller: Chemische Fabrik Dr. Hetterich KG, Fürth/Bay.

1 g Carminativum enthält 1g alkoholischen Auszug aus folgenden Drogen:

| | |
|---|---|
| Flores Chamomillae | 50 mg |
| Folia Menthae piperitae | 55 mg |
| Fructus Carvi | 65 mg |
| Fructus Foeniculi | 60 mg |
| Pericarpium Aurantii | 70 mg |

Auszugsmittel: Ethanol 31 % (g/g)

Herstellung: Reihenperkolation

Die Pflanzenextrakte wurden entweder vor Zusatz der kontraktionsauslösenden Stoffe (Vorbehandlung) oder danach (Nachbehandlung) der Krebs-Henseleit-Lösung beigemengt, und zwar in Konzentrationen von 0,625; 1,25; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 und 40,0 ml/l Medium. Einzelheiten finden sich in den Legenden der Abbildungen bzw. Tabellen.

## 2.2. Präparation des isolierten Meerschweinchenileums

Über Untersuchungen an isolierten, überlebenden Organen berichtet MAGNUS (1904). An diese im Prinzip unveränderte Versuchsanordnung lehnt sich die nachfolgend beschriebene an.

2.2.1. Versuchstiere

Es wurden Meerschweinchen beiderlei Geschlechts der Firma Schmid, Holzgerlingen, mit einem Gewicht von 250 bis 500 g verwendet.

Nach Eintreffen im Tierstall des Pharmazeutischen Instituts Tübingen, wurden sie mit Meerschweinchen-Standardfutter der Firma Altromin (Lage/Lippe) bei einer Raumtemperatur von 24° C gehalten. Futter und Leitungswasser aus Saugflaschen wurden ad libitum angeboten.

2.2.2. Präparation

Zunächst wurde das Gewicht der Tiere festgestellt. Danach wurden sie durch Genickschlag mit anschließendem Eröffnen der Halsschlagader bzw. durch Dekapitation getötet. Nach dem Ausbluten wurden sie auf ein Präparierbrett aus Styropor aufgespannt. Die Haut wurde mit einem Medianschnitt bis zum Brustbein aufgeschnitten, abpräpariert und zur Seite gelegt. Dann wurde die Bauchdecke T-förmig aufgeschnitten und ebenso wie die Haut seitlich festgehalten. Das Intestinum caecum wurde nach links gelegt und das Ileum terminale ungefähr 2 cm oberhalb der Ileocaecalklappe vorsichtig, ohne die Darmwand zu verletzen vom Mesenterium getrennt,

ein 20 bis 30 cm langes Stück herauspräpariert und sofort in eine Petrischale mit carbogengesättigter Krebs-Henseleit-Lösung von Raumtemperatur überführt. Das ventrale Ende wurde mit einem Faden gekennzeichnet.

Es wurden jeweils 5 cm lange Darmstücke abgeschnitten und in Richtung der natürlichen Peristaltik zur Entfernung von Darminhalt und Schleim mit carbongesättigter Krebs- Henseleit-Lösung durchgespült (STURDE 1968). Zum Durchspülen wurde das ventrale Ende des Darmstückes über den Konus einer 10 ml - Spritze gestülpt, mit einer Pinzette festgehalten und mit leichtem Druck der Darminhalt hinausbefördert. Das gequetschte Ende wurde abgeschnitten, so daß ein Ileumstück von etwa 2 bis 3 cm Länge übrigblieb. Jetzt wurde das Darmstück mit Schlaufen aus Baumwollfaden versehen um es in das Organbad einhängen zu können. Dazu wird mit einer gebogenen Nadel vom Darmlumen her eine Darmwand durchstochen und der Faden hindurchgezogen. Am caecalen Ende wird, ohne die Darmwand zu quetschen, eine Doppelschlaufe angeschlungen mit der das Präparat später in die untere Befestigungsöse des Organbads eingehängt wird. Am ventralen Ende wird ebenfalls eine die Darmwand nicht beengende Schlaufe befestigt, an der ein langes Fadenende verbleibt mit dem das Präparat mit der Fadenklemme des Hebels verbunden wird (Abbildung 1).

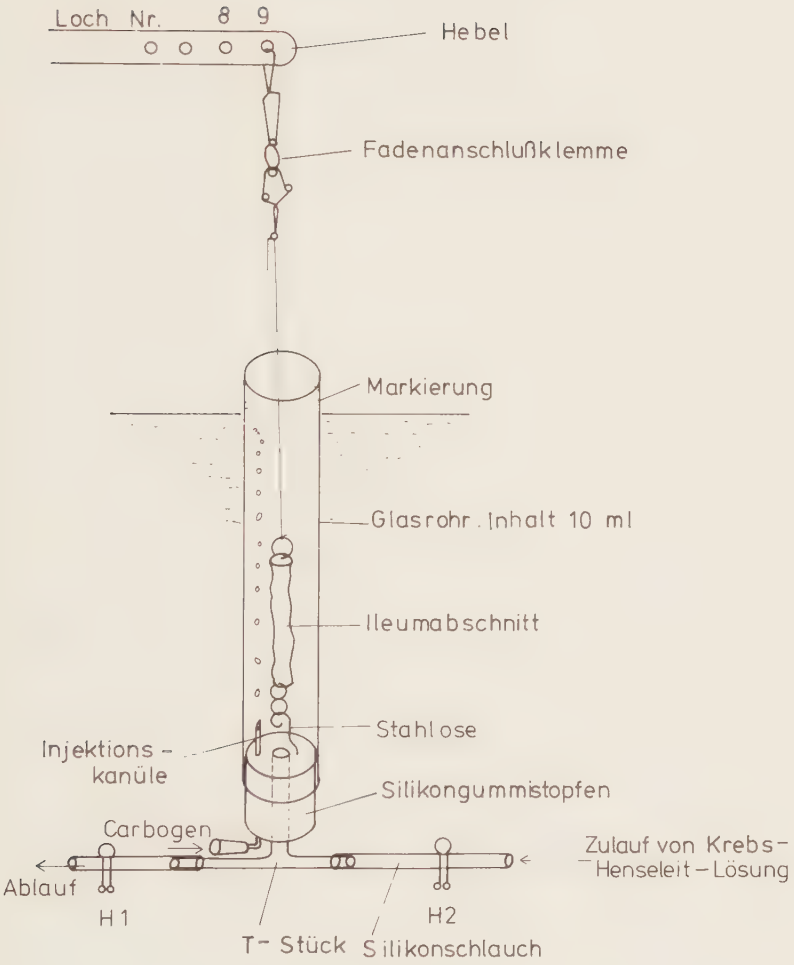


Abbildung 1: Organbad und Befestigung des Darmabschnitts am Hebel

Auf dieselbe Art und Weise wie eben beschrieben, wurden je nach Bedarf 4 bis 6 Ileumstücke desselben Meerschweinchens präpariert. 2 Abschnitte wurden sofort mit dem caecalen Ende nach unten in je ein Organbad eingehängt, die restlichen bis zum Gebrauch im Kühlschrank in mit Carbogen gesättigter Krebs-Henseleit-Lösung aufbewahrt.

Während die beiden ersten Darmstücke zur Kontraktion gebracht wurden, wurden die 2 Darmstücke, die als nächste eingesetzt werden sollten, bei Raumtemperatur in mit Carbogen durchperlter Krebs-Henseleit-Lösung aufgewärmt. Ebenso wurden dann während des zweiten Versuchsdurchgangsdie Darmstücke für den dritten Versuch aus dem Kühlschrank wieder auf Raumtemperatur gebracht.

## 2.3. Apparatur:

### 2.3.1. Organbad (Abbildung 1)

Nachdem alle Darmstücke wie oben beschrieben mit Schlaufen versehen waren, wurden die beiden im ersten Versuch zum Einsatz kommenden Stücke in die Organbäder eingehängt.

Das Organbad, von denen zwei genau gleiche in symmetrischer Anordnung vorhanden waren, besteht aus einem

Glasrohr von 8 cm Länge, das innerhalb zweier Marken 10 ml faßt. Bis zu der unteren Markierung sitzt es auf einem Silikongummistopfen, durch den eine Kanüle und ein zu einer Öse gebogener Stahldraht führt. Durch die Kanüle wird der Inhalt des Organbades mit Carbogen durchperlt, in die Öse wird das caecale Ende des Ileumabschnittes eingehängt. Das ventrale Ende wird über das verbliebene lange Fadenende am Fadenhalter des Hebels befestigt. Der Silikongummistopfen sitzt auf der Abzweigung eines T-Stücks durch das die Badflüssigkeit gewechselt werden kann. Diese fließt beim Öffnen des Hahnes (H 1) ab. Der Zulauf erfolgt beim Öffnen des Hahnes (H 2) aus dem Vorratsbehälter über eineWärmeschlange (Abbildung 1 und 2).

Das Organbad ist eingetaucht in ein Wasserbad aus Plexiglas mit 15 l Inhalt das durch einen Thermostaten (Thermomix junior, B. Braun, Melsungen) auf konstant 37° C gehalten wird. Im Wasserbad liegt eine Glasspirale (17 cm lang, Ø 5 cm, 12 Windungen) durch die die von der Vorratsflasche kommende Badflüssigkeit zufließt und somit auf 37° C erwärmt wird. Für die Krebs-Henseleit-Lösung mit bzw. ohne Zusatzstoff ist jeweils eine getrennte Anwärmspirale vorhanden. Durch Umlegen des Dreiwegehahnes H 3 in Abb. 2 kann das Organbad mit der entsprechenden Vorratsflasche verbunden werden.

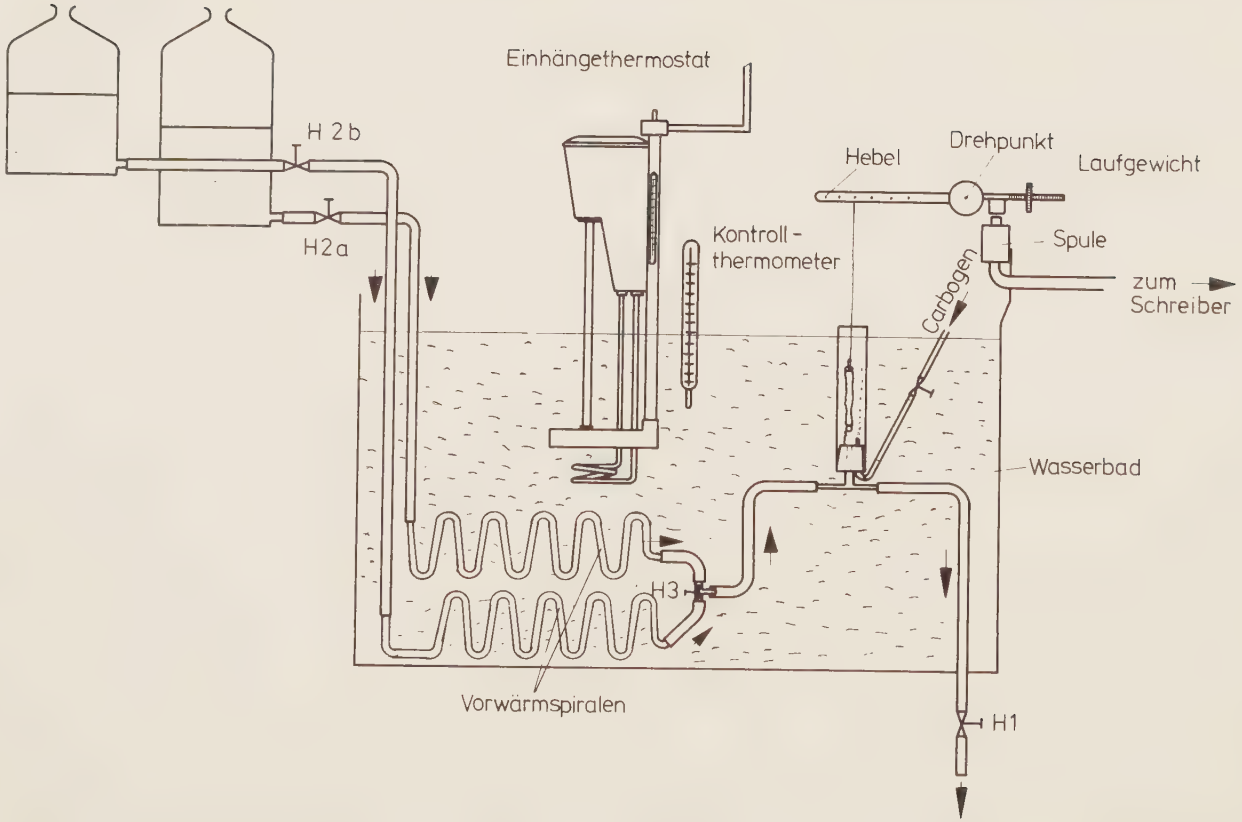


Abbildung 2: Schemazeichnung der Apparatur isolierte Organe

Die Messung der Kontraktionen erfolgt mit einer isotonen Meßeinrichtung, bei der die auf das Organ einwirkende Kraft während des Meßvorganges gleich bleibt, bestehend aus einem Hebelvorsatz (dem Wegaufnehmer) und einem Hochfrequenz-Modem (dem Wegmesser). (Beide Geräte, die aufeinander abgestimmt sind: Hugo Sachs Elektronik, Hugstetten.)

2.3.2. Prinzip der Registrierung

Die durch Agonisten ausgelösten Kontraktionen des Ileums wurden isotonisch über einen Wegaufnehmer auf einem Direktschreiber registriert.
Bei der isotonischen Registrierung wird bei gleichbleibender Belastung - der Vorlast - die absolute Längenänderung des Muskels gemessen. Während der Muskelaktion muß die Vorlast konstant bleiben und es dürfen keine zusätzlichen Kräfte benötigt werden, z.B. zur Überwindung von Reibung, zur Durchbiegung von Material oder Beschleunigung von Massen, außerdem sollte keine Rückwirkung des Meßsystems auf den Hebel bzw. das Organ stattfinden, was durch die berührungslose Wegmessung des vom Hebel zurückgelegten Weges gewährleistet ist.

Der zweiarmige Hebel ist leicht drehbar gelagert, der lange Hebelarm, der der Verbindung mit dem Organ dient, ist in Abständen vom 1 cm mit Bohrungen zur Aufnahme

des Fadenhalters versehen, so daß der Abstand des Angriffspunktes des Darmes, vom Drehpunkt, bestimmt werden kann (der Abstand in cm ist identisch mit der Loch Nr. in Abbildung 1). Der kurze Hebelarm trägt ein Laufgewicht und ebenfalls eine Zentimetereinteilung, somit kann, mit Hilfe des Hebelgesetzes, die auf dem Organstück ruhende Vorlast ausgerechnet werden.

Bei den Versuchen ruhte eine Vorlast von 1,125 bzw. 1,75 g auf dem Organ, je nachdem, ob das Präparat, abhängig von seiner Länge, 8 oder 9 cm vom Drehpunkt entfernt befestigt war. Damit wird eine leichte Dehnung des Darmes erreicht.

Eine Kontraktion des Präparates führt zu einer Bewegung des Hebels, die berührungsfrei gemessen wird. Diese Bewegung wird proportional verstärkt und auf einem "Kasett"-Laborschreiber (Rikadenki-Electonics, Freiburg) aufgezeichnet. Der Hebel wird so eingestellt, daß die Ausgangslage möglichst nahe am oberen Anschlag ist, so daß zu einer Kontraktion des Darmstückes der gesamte Hebelweg, der bei Loch 9: 18 und bei Loch 8: 16 mm beträgt zur Verfügung steht.

## 2.4. Versuche zur Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

### 2.4.1. Wirkung von Acetylcholin und Histamin bei Anwesenheit der Pflanzenextrakte (Vorbehandlung)

Es wurden pro Darmabschnitt 2 Dosis-Wirkungs-Kurven mit Acetylcholin bzw. Histamin erstellt, zuerst der Kontrollversuch ohne Zusatz (Abwesenheit der Pflanzenextrakte) und danach der Hauptversuch, bei dem der zu untersuchende Extrakt zugesetzt war.

Nach 1o min Äquilibrierungszeit, während der alle 2 min einmal die Badflüssigkeit gewechselt wurde, wurde mit der Zugabe der kontraktionsauslösenden Substanzen begonnen. Beginnend mit der niedrigsten Konzentration des Agonisten (Endkonzentration im Bad 2,5 µg/l),bei der je nach Empfindlichkeit keine bzw. eine geringe Kontraktion erfolgte, wurde die Dosis zunächst immer verdoppelt, damit ergeben die Konzentrationen eine geometrische Reihe. Nach einiger Zeit stellte sich heraus, daß bei vervierfachen der Konzentrationen bei geringerem Zeitaufwand ebensogute Dosis-Wirkungs-Kurven zu erhalten waren.

Die Lösungen wurden mit einer O,1 ml Meßpipette dem

Bad zugegeben. Die Spitze der Pipette tauchte dabei in die Flüssigkeit ein. Zur schnelleren Vermischung wurde die Pipette immer ausgeblasen. Das Darmstück war so tief in der Nährlösung, daß es durch die austretende Lösung und Luftblasen nicht irritiert werden konnte. Die Kontraktion des Ileums begann unmittelbar nach Zufügen des Agonisten. Die Zugabe der Lösungen erfolgt im 2-Minuten-Takt, d.h. zum Zeitpunkt O min wurde die Lösung zugegeben, nach 30 sec Einwirkungszeit durch dreimaliges Wechseln der Badflüssigkeit gespült und dem Darm 9o sec Erholungszeit belassen. Beim Zeitpunkt 2 min wurde die nächste Dosis Agonist zugegeben, die nach 30 sec ausgespült wurde und so weiter. Die Dosierungen wurden so lange gesteigert, bis bei zwei aufeinanderfolgenden Konzentrationen keine Wirkungssteigerung mehr zu erzielen war. Das war bei Acetylcholin und Histamin meist zwischen 640 und 10 240 µg/l der Fall.

Nach Erreichen der maximalen Wirkung wurde durch Umlegen eines Drei-Wege-Hahns (H 3 in Abbildung 2) das Organbad mit der Vorratsflasche, die Nährmedium zusammen mit den zu untersuchenden Extrakten oder den zu untersuchenden Substanzen enthielt, verbunden. In Gegenwart dieser Lösung wurde erneut eine Dosis-Wirkungs-Kurve mit dem jeweiligen Agonisten erstellt, bis keine Wirkungssteigerung mehr eintrat. Das war

jetzt erst bei höheren Dosen der Fall, außerdem war häufig der maximale Ausschlag, der ohne Zusatz zu sehen war, nicht mehr zu erreichen.

2.4.1.1. Prüfung auf Reversibilität der Kontraktionshemmung

Um zu prüfen, ob die Hemmung der Acetylcholinkontraktion durch Carminativum wieder auswaschbar ist, wurden Dosis-Wirkungs-Kurven mit Acetylcholin vor Behandlung mit Carminativum, in Anwesenheit von Carminativum und nach Auswaschen desselben erstellt.

Es wurde so vorgegangen, daß nach Erstellen der Dosis-Wirkungs-Kurve in Anwesenheit von 0,625 ml/l Carminativum weitere Kurven an dem eben behandelten Darmstück nach dem Auswaschen durchgeführt wurden. Nachdem die Dosis-Wirkungs-Kurve mit Zusatz von Carminativum abgeschlossen war, wurde die Versorgung des Organbades wieder auf reine Krebs-Henseleit-Lösung umgeschaltet und Werte für drei weitere Kurven gewonnen. Es ergeben sich somit insgesamt 5 Dosis-Wirkungs-Kurven pro Darmstück. Eine ohne Zusatz als Vergleichswert, eine zweite mit Zusatz von 0,625 ml/l Carminativum und eine dritte, vierte und fünfte wieder ohne Zusatz eines Antagonisten.

Neben der Versuchserie wurden in einer Kontrollserie in der Parallelapparatur, mit einem Darmstück desselben Meerschweinchens, dessen Ansprechbarkeit bei mehrmaliger und häufig wiederholter Stimulation geprüft. Hierzu wurden hintereinander 5 Dosis-Wirkungs-Kurven ohne jeglichen Zusatz von Antagonisten erstellt.

### 2.4.2. Wirkung von Carbachol (Kumulative Dosis-Wirkungs-Kurven)

Bei kumulativen Dosis-Wirkungs-Kurven werden die steigenden Dosen des Agonisten Schritt für Schritt ohne zwischengeschaltetes Auswaschen in das Organbad einpipettiert (VAN ROSSUM, VAN DEN BRINK 1963). Nach der Äquilibrierzeit, während der wie bei der Vorbehandlung mit den Pflanzenextrakten, nur gespült wurde, wurde zur Kontraktionsauslösung Carbachol zugegeben. Sobald sich die Kontraktion stabilisiert hatte, die Anzeige auf dem Schreiber also auf demselben Niveau blieb, wurde, ohne zwischengeschalteten Spülvorgang, die nächste Dosis Carbachol zugegeben. Parallel mit dem Ansteigen der Dosis erfolgte eine immer stärkere Kontraktion des Darmes. Sobald die nächsthöhere Konzentration keine Wirkungssteigerung mehr zeigt, wurde angenommen, daß die maximale Wirkung erreicht war und der Agonist durch mindestens fünfmaliges Auswaschen entfernt.

### 2.4.2.1. Einfluß der Pflanzenextrakte auf eine bereits durch Carbachol ausgelöste Kontraktion (Nachbehandlung)

Da eine Vorbehandlung mit Antagonisten weniger den physiologischen Gegebenheiten entspricht als die Behandlung eines schon bestehenden pathologischen Zustandes (Spasmus), wurde zusätzlich die Wirkung der Pflanzenextrakte auf eine schon bestehende Kontraktion geprüft.

Bei der nachträglichen Einwirkung der Pflanzenextrakte auf die Carbacholkontraktion wurde die Carbacholdosis zugegeben, die in der vorher erstellten kumulativen Dosis-Wirkungs-Kurve etwa 75 % der Maximalwirkung erzielte. (Meist 30,0 bis 60,0 µg/l, manchmal 120 µg/l). Es sollte nicht zuviel Carbachol zugegeben werden, damit nicht erst das überschüssige Carbachol, das keine Wirkungssteigerung mehr erzielen kann, verdrängt werden muß, sondern nur soviel, daß kein Überschuß vorhanden ist, was unterhalb von 100 % der maximal möglichen Wirkung der Fall ist.

Sobald die Kontraktion auf dem gleichen Niveau blieb, wurde der Pflanzenextrakt zugegeben. Die Dosen wurden, ausgehend von einer Endkonzentration von 0,625 ml Extrakt pro Liter Badflüssigkeit, immer verdoppelt,

bis eine Konzentration von 40,0 ml/l erreicht war (bei der 30%igen Ethanollösung 80,0 ml/l). Nach Zugabe des jeweiligen Pflanzenextraktes ging die Kontraktion des Ileumstücks dosisabhängig zurück. Der Kontraktionsrückgang erfolgt in voller Stärke nicht unmittelbar nach Zugabe des Pflanzenextraktes, sondern allmählich und erstreckte sich über einen Zeitraum bis zu 5 min.

Sobald kein weiterer Rückgang mehr stattfand, wurde ausgewaschen und die gleiche Dosis Carbachol zugegeben, die nötig war, um ca. 75 % Kontraktion zu erzielen. Blieb die Kontraktion des Ileums auf konstanten Niveau, wurde mit der nächsten Extraktkonzentration behandelt usw., solange bis die Hemmung der durch Carbachol ausgelösten Kontraktion vollständig war.

### 2.4.2.2. Untersuchungen zur Ermüdbarkeit des isolierten Meerschweinchenileums bei wiederholter Gabe von Carbachol

Als Vergleichswert zur durch Pflanzenextrakte ausgelösten Hemmung der Carbacholkontraktion des isolierten Meerschweinchenileums sollte in dieser Versuchsserie untersucht werden, wie sich die Reaktion auf Carbachol ohne Arzneistoffzusatz verhält. Verringert sie sich, oder wird sie stärker?

Infolge enzymatischen Abbaus des Acetylcholins verringerte sich die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Ileums im Laufe der Zeit auch ohne Zugabe eines Antagonisten. Bei der Vorbehandlung mit den Pflanzenextrakten wurde deshalb die Kontraktion nur 30 sec lang beobachtet. Bei der Nachbehandlung einer durch Carbachol ausgelösten Kontraktion wurde die allmähliche Kontraktionshemmung durch einen Pflanzenextrakt solange beobachtet, bis kein weiterer Rückgang der Kontraktion mehr erfolgte. Um eine Aussage über ein evt. spontanes Nachlassen der Carbacholkontraktion treffen zu können, mußte ein Ileumstück ohne jegliche Arzneibehandlung denselben Versuchsbedinungen unterworfen werden, wie ein mit Extrakt behandeltes.

Dieser Vergleichswert wurde bei je einem Darmstück von 10 verschiedenen Meerschweinchen gewonnen. Während im einen Organbad ein Versuch mit einem Pflanzenextrakt durchgeführt wurde, wurde in der Parallelapparatur ein Darmstück desselben Meerschweinchens ohne Zugabe eines Pflanzenextraktes genauso behandelt, d.h. immer wenn bei dem mit Extrakt behandelten gespült wurde, wurde auch bei der Kontrolle gespült. Wurde Carbachol zugegeben,wurde auch bei der Kontrolle Carbachol zugegeben, nur der Zusatz des jeweiligen Pflanzenextraktes unterblieb jetzt. Das unbehandelte Ileumstück verblieb damit ebensolange im Darmbad wie ein behandeltes und mußte genausoviele Kontraktionen und

Waschvorgänge mitmachen.

2.4.2.3. Prüfung auf Reversibilität der Hemmung der Carbacholkontraktion durch die Pflanzenextrakte

Zur Prüfung auf Reversibilität der Wirkungen der Pflanzenextrakte wurden kumulative Dosis-Wirkungs-Kurven von Carbachol an demselben Darmstück vor und nach der Behandlung mit den Pflanzenextrakten erstellt. Zu Beginn des Versuches wurde eine kumulative Dosis-Wirkungs-Kurve von Carbachol erstellt aus der die Dosis gewonnen wurde, die etwa 75 % Kontraktion erzeugt. Daraufhin wurde an dieser 75%igen Kontraktion die Prüfung der nachträglichen Hemmung mit den verschiedenen Konzentrationen der Pflanzenextrakte durchgeführt. Nachdem alle 7 Extraktkonzentrationen zugegeben worden waren, wurde nach Ausspülen der letzten und höchsten Konzentration erneut eine kumulative Dosis-Wirkungs-Kurve von Carbachol in Abwesenheit der Pflanzenextrakte erstellt. Diese nach Abschluß der Behandlungen gewonnene Dosis-Wirkungs-Kurve wurde mit der am Anfang des Versuches, als der Darm noch nicht mit einem Arzneistoff in Berührung gekommen war, erstellten verglichen.

## 2.5. Methoden der Versuchsauswertung

### Versuche mit Acetylcholin und Histamin

Zur Auswertung der Schreiberausschläge wurden die Peakhöhen, ausgehend von der Grundlinie bis zu der sich der Darm immer wieder entspannt hat, ausgemessen. Der von dem jeweiligen Darmstück ohne Antagonist erreichbare maximale Ausschlag wurde gleich 100 % gesetzt und die anderen geringeren Ausschläge sowohl der Kontrollkurve als auch der Kurve in Anwesenheit eines Pflanzenextraktes darauf bezogen. Durch diese Methode wird die Länge des Darmstücks, die nicht exakt bestimmt werden kann und eine evt. notwendige Veränderung des Befestigungspunktes, die bei jedem Versuch anders sein können, eliminiert, so daß die Dosis-Wirkungs-Kurven verschiedener Darmabschnitte ohne weiteres miteinander verglichen werden können.

Die Zeichnung der Dosis-Wirkungs-Kurven erfolgte im halblogarithmischen Maßstab, wobei auf der Abszisse die Logarithmen der Konzentration der Agonisten im Organbad aufgetragen wurden. (Die Logarithmen der Werte der geometrischen Reihe ergeben eine arithmetische Reihe und somit den gleichen Abstand der Konzentrationsschritte voneinander.) Auf der Ordinate wurde die Wirkung in Prozent abgetragen, wobei 100 % die maximale Wirkungsstärke der Agonisten ohne Zusatz ist.

Für jeden Ileumabschnitt wurde die von ihm gewonnene Dosis-Wirkungs-Kurve gezeichnet und die $ED_{50}$ graphisch ermittelt. Bei der Dosis-Wirkungs-Kurve des reinen Agonisten ohne Behandlung wurde bei 50 %-Wirkung eine Parallele zur x-Achse gezogen und im Schnittpunkt mit der Dosis-Wirkungs-Kurve das Lot gefällt, das die Abszisse bei der Konzentration des Agonisten schneidet, welche 50 % der Wirkung erzielt.

Besonders in Anwesenheit der höheren Konzentrationen der Pflanzenextrakte konnte keine noch so hohe Dosis Agonist eine so starke Kontraktion erzeugen, wie es ohne Behandlung der Fall war; die maximal mögliche Wirkung (100 %) des Agonisten konnte nicht mehr erreicht werden. Um die $ED_{50}$ der Agonisten in diesem Falle zu erhalten, wurde die Hälfte des in Anwesenheit eines Antagonisten noch zu erreichenden Maximaleffektes errechnet. Jetzt wurde eine Parallele zur x-Achse in dieser Höhe gezogen und die Konzentration an Agonist abgelesen, bei der diese Parallele die Dosis-Wirkungs-Kurve in Anwesenheit eines Pflanzenextraktes schneidet (VAN ROSSUM 1963).

Diese Dosis liegt naturgemäß niedriger als jene, die bei 50 % Wirkung des Agonisten ohne Zusatz abgelesen würde. Die Methode hat den Vorteil, daß man immer eine $ED_{50}$ erhält. Liegt nämlich die maximale Wirkung

des Agonisten in Anwesenheit eines Antagonisten unterhalb der 50 %-Marke ohne Zusatz, ergibt sich mit der Parallelen bei 50 %-Wirkung kein Schnittpunkt mehr mit der Dosis-Wirkungs-Kurve in Anwesenheit des Antagonisten und damit keine $ED_{50}$.

Versuche mit Carbachol:

Zur Zeichnung der kumulativen Dosis-Wirkungs-Kurven von Carbachol wurde die Höhe des Schreiberausschlags bei der jeweiligen Konzentration Agonist vom Ausgangspunkt aus bestimmt, die maximal mögliche Kontraktion gleich 100 % gesetzt und die niedrigeren Ausschläge prozentual darauf bezogen.

Zur Auswertung der Nachbehandlung einer durch Carbachol ausgelösten Kontraktion wurde die Dosis ausgewählt, die nach der kumulativen Dosis-Wirkungs-Kurve eine etwa 75%ige Kontraktion erzeugt. Diese Dosis führte jedesmal zu einer ungefähr gleich starken Kontraktion. Bei jeder zugesetzen Konzentration eines Pflanzenextraktes wurde die jeweilige Kontraktion als Bezugswert verwendet. Die Kontraktion, die nach Zusatz eines Pflanzenextraktes verblieb wurde von diesem Bezugswert abgezogen und die Differenz in Prozent des Bezugswertes errechnet. Die Mittelwerte dieser Hemmwerte in Prozent (aus 6 Versuchen) wurden im halblogarithmischen Koordinatensystem gegen den Logarith-

mus der Konzentrationen der Pflanzenextrakte aufgetragen, was dann die Dosis-Wirkungs-Kurven für die Pflanzenextrakte ergab.

Zur Errechnung der $ED_{50}$ der Extrakte und der Streuung ihrer Mittelwerte, wurden die Meßwerte eines jeden einzelnen Versuches in das Koordinatensystem eingetragen und durch die Punkteschar von Hand das bestmögliche Sigmoid gelegt. Aus diesem Sigmoid wurde graphisch, nach der vorher beschriebenen Methode, die Dosis, die 50 % Hemmung erzielt, ermittelt.

Bei den Versuchen mit Carbachol wurden infolge der relativ starken Spontanaktivität die Mitte der sich um ein bestimmtes Niveau bewegenden Schreiberausschläge herangezogen.

## 2.6. Statistische Methoden

Aus den Einzelwerten ($ED_{50}$ bzw. $\Delta$ $ED_{50}$), die jeweils aus einem Versuch gewonnen wurden, wurden für jeweils eine Konzentration mit einem Olivetti Tischcomputer (Programma P 602) die Mittelwerte mit Standardabweichung der Mittelwerte berechnet (Anzahl der Einzelwerte = N). Genauso wurden die Mittelwerte und deren SEM der einzelnen Punkte der Durchschnitts-Dosis-Wirkungs-Kurven aus den Einzelwerten der N Versuche berechnet.

Zur Prüfung auf einen signifikanten Unterschied wurde der verteilungsfreie Rangtest für paarweise zusammengehörende Meßergebnisse von Wilcoxon angewandt (WINNE 1964), da die Dosis-Wirkungs-Kurven am selben Darmstück, einmal mit und einmal ohne Behandlung erstellt wurden. Da nur eine evt. Erhöhung der $ED_{50}$ der Agonisten interessant war, wurde die einseitige Fragestellung verwendet.

Ein Versuch sollte als signifikant angesehen werden, wenn sich ein $P \leq 0{,}05$ ergibt (WINNE 1967).

Der verteilungsfreie Rangtest von Wilcoxon setzt keine Normalverteilung voraus (die in Biologie und Medizin häufig nicht vorliegt), steht dem Student-Test aber auch bei normalverteilter Grundgesamtheit nicht viel nach (WISSENSCHAFTLICHE TABELLEN GEIGY 1968). Da nicht sicher gesagt werden kann, ob hier eine Normalverteilung vorliegt, ist es nach WISSENSCHAFTLICHE TABELLENGEIGY (1968) sicherer, den voraussetzungsloseren Test anzuwenden, auch wenn dadurch ein kleiner Teil der Information verloren geht.

Der Wilcoxon Test zum Vergleich von Paardifferenzen gestaltet sich bei den Dosis-Wirkungs-Kurven der Vorbehandlung sehr einfach, da hier keine negativen Differenzen auftreten, $T_-$ (T minus) somit immer Null

ist, was bei der einseitigen Fragestellung und N = 6 zu einem $P \leq 0{,}025$ führt. Die P-Werte des t-Testes sind in einigen Fällen kleiner.

Bei der Hemmung der Carbacholkontraktion durch nachträgliche Zugabe der Substanzen wurde ein Nullwert ohne Behandlung mit N = 10 erstellt und mit diesem die Hemmung durch die Antagonisten verglichen. Es liegen keine gepaarten Werte vor. Hier wurde die zweiseitige Fragestellung angewandt.

Ein Darmstück ein und desselben Meerschweinchens wurde bei den Vorbehandlungsversuchen nur für eine Konzentration eines Extraktes verwendet, bei der Nachbehandlung nur für ein Extrakt (verschiedene Konzentrationen), so daß die N Werte von N verschiedenen Meerschweinchen gewonnen wurden.

Varianzanalyse:

Um festzustellen, ob überhaupt Unterschiede zwischen den Wirkungen der einzelnen Extrakte bestehen und welche Extrakte sich dannvoneinander unterscheiden, wurde die einfache Varianzanalyse gewählt (SACHS 1973). Zur Durchführung wurden die $\Delta \log ED_{50}$ untereinander verglichen. Ergab sich im F-Test ein signifikanter Unterschied ($P \leq 0{,}05$) zwischen den einzelnen Extrakten, wurde mit Hilfe von Dunns Procedure untersucht, welche Extrakte sich mit $P \leq 0{,}05$ voneinander unterscheiden.

ander unterscheiden (GAMES 1977).

Beim Vergleich der $ED_{50}$ der Extrakte bei einer durch Carbachol ausgelösten Kontraktion wurden die log $ED_{50}$ miteinander verglichen.

Ausreißer:

Um zu prüfen, ob vom Durchschnitt stark abweichende Einzelwerte einer anderen Grundgesamtheit angehören, also Ausreißer sind, wurde die Methode von Dixon verwendet (SACHS 1975). Werte die die 5% Schranke beim entsprechenden N überschritten wurden als Ausreißer angesehen und verworfen.

# 3. VERSUCHSERGEBNISSE

## 3.1. Allgmeines

Bei Wirksamkeitsuntersuchungen kann man den Effekt, den eine einzelne Dosis hervorruft, messen oder die Dosis, die einen bestimmten Effekt hervorruft. Eine andere Möglichkeit zur Wirksamkeitsbestimmung ist die Erstellung von Dosis-Wirkungs-Kurven, so wie hier verfahren wurde.

Um Aussagen über Affinität und intrinsic activity machen zu können, sind Dosis-Wirkungs-Kurven notwendig. Dosis-Wirkungs-Kurven können aber nur von Agonisten gewonnen werden, da die Antagonisten selbst keine intrinsic actitity besitzen. Antagonisten müssen deshalb in Verbindung mit einem Agonisten untersucht werden. Dazu wurde zuerst der Effekt verschiedener Dosen derselben Substanz (Agonist) gemessen. Anschließend wurde dann untersucht, ob bei Zusatz verschiedener möglicher Antagonisten der Agonist noch die gleiche Wirkung wie vorher besitzt (VAN ROSSUM 1963). Es kommt jetzt in Anwesenheit des Antagonisten entweder zu einer Parallelverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve der reinen Agonisten (kompetitiver Antagonist) oder es kann (bei nicht kompetitiven Antagonisten) zu einer Verminderung der bei

Verwendung von Agonisten maximal möglichen Wirkung kommen. Die maximal mögliche Kontraktion des Ileums ohne Zusatz eines Antagonisten kann dann auch durch noch so große Dosen an Agonisten nicht mehr erreicht werden.

Im hier vorliegenden Fall wird beim Modell des isolierten Meerschweinchenileums nicht die eigentliche Wirkung geprüft, sondern der Antagonismus gegen ein Cholinergicum (Acetylcholin oder Carbamoylcholin) oder gegen Histamin oder gegen einen krampferzeugenden Stoff (z.B. Bariumchlorid). Der Standardtyp eines kompetitiven Anticholinergicums ist Atropin, der mit Antibariumwirkung, Papaverin, das praktisch gegen alle Arten von Spasmen wirkt, auch gegen solche die von Acetylcholin und Histamin ausgelöst werden.

Die Wirkung der Spasmolytica ist dann besonders eindrucksvoll, wenn eine krankhafte Erhöhung der auch im Normalzustand stets vorhandenen Muskelspannung vorliegt. Das ist hier der Fall, da die Dosis an Agonisten, die zu einer Kontraktion führt, so lange erhöht wird, bis keine Steigerung der Kontraktion mehr möglich ist.

## 3.2. Auslösung der Kontraktion durch Acetylcholin

### 3.2.1. Einfluß von Atropin

Um einen Vergleich mit einem Standardspasmolyticum zu erhalten, wurden sowohl zur Kontrolle des Versuchsaufbaus, als auch zum Vergleich, Versuche mit verschiedenen Konzentrationen von Atropin angestellt. Es wurde dem Vorrat an Badflüssigkeit 0,12 µg/l, 1,2 µg/l und 12 µg/l Atropinsulfat zugesetzt, was, berechnet auf die Base, 0,1 µg/l; 1 µg/l und 10 µg/l Atropin entspricht.

Da Atropin ein kompetitiver Antagonist des Acetylcholins ist, kommt es zu einer Parallelverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve nach rechts, wobei der maximal mögliche Effekt, 100 % der Acetylcholinwirkung, wieder erreicht wird, allerdings erst bei wesentlich höheren Konzentrationen des Agonisten (Abbildung 3 a-c). In der Tabelle 1 sind die Verschiebungen der $ED_{50}$ des Acetylcholins durch Atropin zusammengefaßt.

Bei den Tabellen haben die einzelnen Spalten folgende Bedeutung: N ist die Anzahl der Versuche, die mit der jeweiligen Konzentration an Antagonisten durchgeführt wurden. $ED_{50}$ ohne ... ist diejenige Konzentration von Acetylcholin bzw. Histamin, die deren halbmaxi-

malen Effekt erzeugt solange noch kein Pflanzenextrakt anwesend ist. In der 3. Spalte $ED_{50}$ mit ... sind die Konzentrationen an Agonisten aufgeführt, die nötig sind um in Anwesenheit eines Pflanzenextraktes die Hälfte der jetzt nochmaximal möglichen Kontraktionen zu erzeugen. Die 4. Spalte zeigt die P-Werte, die sich aus dem verteilungsfreien Rangtest nach Wilcoxon für die Differenz zwischen $ED_{50}$ mit ... und $ED_{50}$ ohne ... ergeben. In der 5. Spalte $\Delta ED_{50}$ ist diese Differenz aufgeführt. In Spalte 6, maximale Wirkung %, ist die in Gegenwart der genannten Zusätze maximal erreichbare Wirkung der Agonisten in Prozent der maximal möglichen Wirkung in Abwesenheit der Zusätze gezeigt.

Oral und rectal werden als Normdosis 0,3 bis 0,5 mg, subcutan 0,5 bis 1 mg Atropinsulfat verabreicht (BÖHME, HARDKE 1971). Das entspricht, bei einem Körpergewicht von 70 kg, 4 bis 7 bzw. 7 bis 14 µg Atropinsulfat pro Kilogramm Körpergewicht. Die gleichen Dosen ergeben sich aus der Dosierungsangabe für Compretten Atropin. sulfuricum 0,0005 (R) die bis drei mal täglich 1 bis 2 Compretten empfehlen, das sind 7 bzw. 14 µg/kg Körpergewicht. Nach KUSCHINSKI (1973) ergeben sich folgende Kinderdosen:

bis zu 6 mon: 25 - 60 µg, das ergibt, bei 3 - 8 kg Körpergewicht, 8 µg/kg (die niedrigste Dosis für 3 kg, die höhere für 8 kg)

bis zu 30 mon: 0,1 - 0,2 mg, das ergibt bei 8 - 13 kg Körpergewicht 12 - 15 µg/kg.

Die Konzentration 10 µg Atropinbase/ l Badflüssigkeit liegt damit im Bereich der beim Menschen verwendeten Dosierung.

Diese Dosierung führt zu einer Verschiebung der $ED_{50}$ von Acetylcholin von 24,5 µg/l auf 1505 µg/l das ergibt ein $\Delta$ $ED_{50}$ von 1480 µg Acetylcholin/ l Badflüssigkeit. (Tab. 1)

Handelsübliche Pflanzenzubereitungen mit Atropin oder Folia Belladonnae enthalten etwas geringere Mengen Atropin. Z.B. enthält Soluvetan cum Belladonna(R) pro Dosis circa 0,2 mg Alkaloide (Angabe laut Beipackzettel), was, auf 70 kg Körpergewicht umgerechnet, 3 µg/kg Alkaloide ergibt.

Bei Reasec, einem Antidiarrhoicum, das neben Diphenoxylat, 0,025 mg Atropinsulfat pro Tablette enthält, ergibt sich bei der empfohlenen Dosierung von 2 Tabletten eine Dosis von 0,7 µg/kg Körpergewicht. Die Dosierung von Soluvetan cum Belladonna liegt damit zwischen den von uns verwendeten von 1,0 und 10,0 µg/l, Reasec darunter.

Die niedrigeren getesteten Atropinkonzentrationen ergeben ein $\triangle ED_{50}$ von 9,3 µg/l bei 0,1 µg/l Atropin und bei 1,0 µg/l Atropin ein solches von 92,5 µg/l Acetylcholin.

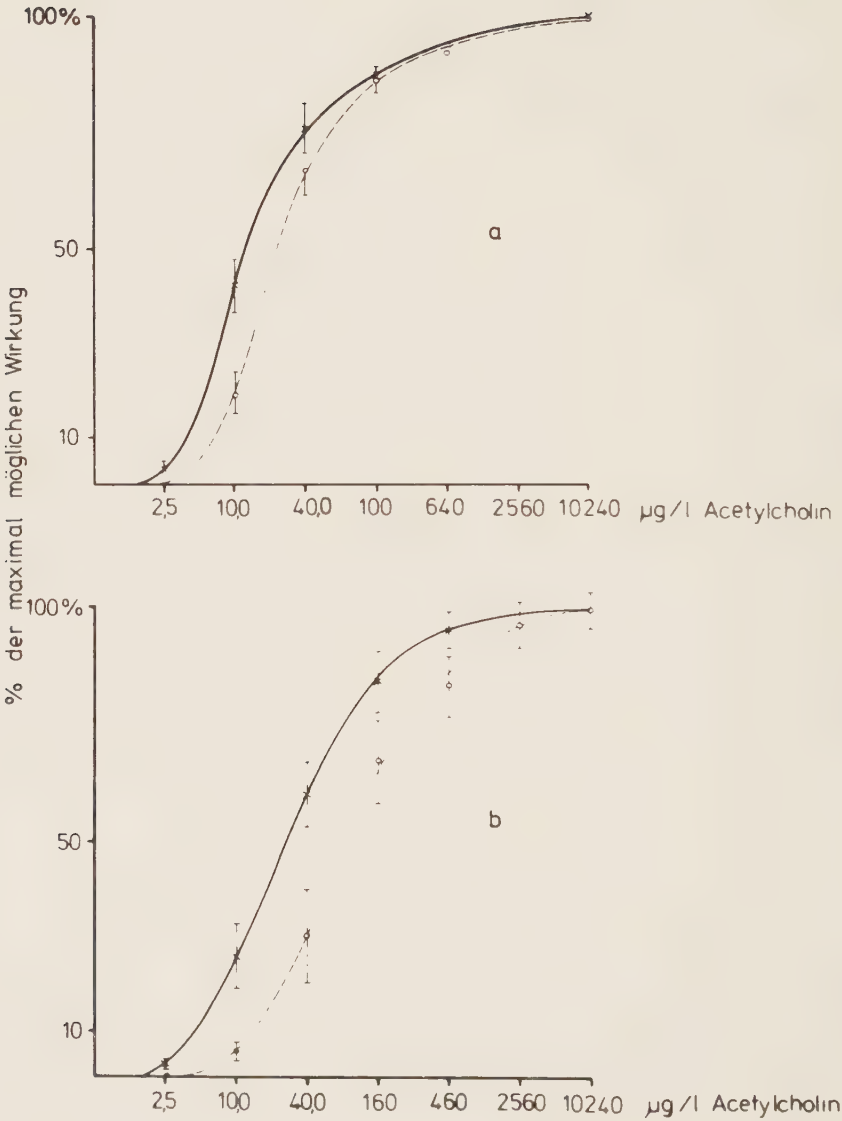
100%
50
10
% der maximal möglichen Wirkung
a
2,5
10,0
40,0
100
640
2560
10240
µg/l Acetylcholin
100%
50
10
b
2,5
10,0
40,0
160
460
2560
10240
µg/l Acetylcholin

Abbildung 3

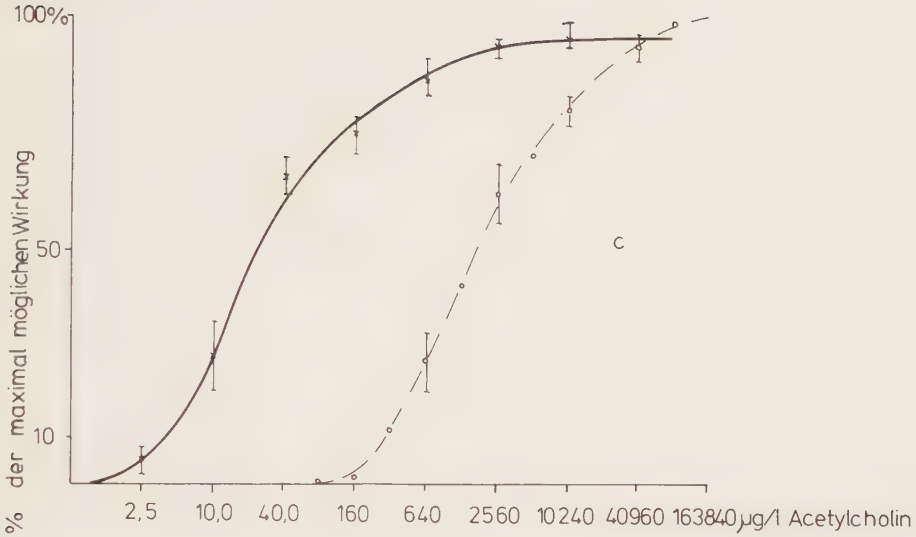


Abbildung 3: Einfluß von Atropin auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 0,1 µg/l Atropin

b) 1,0 µg/l Atropin

c) 10,0 µg/l Atropin

x————x ohne Zusatz

o - - -o in Anwesenheit von Atropin

$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6 - 7

Tabelle 1: Einfluß von Atropin auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration Atropinbase | N | $ED_{50}$ ohne Atropin | $ED_{50}$ mit Atropin | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,1 µg/l | 7 | 15,8 ± 5,2 | 25,1 ± 6,0 | $P \leq 0,025$ | 9,3 ± 1,6 | 99,6 ± 0,2 |
| 1,0 µg/l | 6 | 30,6 ± 7,0 | 123,1 ± 41,7 | $P \leq 0,025$ | 92,5 ± 35,4 | 99,8 ± 1,5 |
| 10,0 µg/l | 7 | 24,5 ± 5,0 | 1505 ± 343 | $P \leq 0,025$ | 1480 ± 367 | 99,3 ± 0,6 |

Tabelle 2: Einfluß von Ethanol auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Ethanol-konzentration | N | $ED_{50}$ ohne Ethanol | $ED_{50}$ mit Ethanol | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1,07 ml/l (≙ 3,6 ml/l Extrakt) | 6 | 10,3 ± 2,1 | 14,6 ± 2,6 | $P \leq 0,1$ (t-Test) | 4,3 ± 2 | 106,5 ± 2,0 |
| 1,5 ml/l (≙ 5,0 ml/l Extrakt) | 6 | 17,5 ± 4,6 | 26,3 ± 7,0 | $P \leq 0,1$ | 8,7 ± 3,3 | 102,8 ± 2,0 |
| 3,0 ml/l (≙ 10,0 ml/l Extrakt | 6 | 12,8 ± 2,6 | 23,6 ± 2,3 | $P \leq 0,025$ | 10,8 ± 2,2 | 100,8 ± 0,6 |

Acetylcholinkonzentration in µg/l; Mittelwerte ± SEM; N = Anzahl der Versuche

*maximale Acetylcholinwirkung (%) in Gegenwart von Atropin bzw. Ethanol

3.2.2. Einfluß von Ethanol

Da das Lösungsmittel von Carminativum Hetterich und den einzelnen Pflanzenextrakten, Ethanol, pharmakologisch nicht indifferent ist, mußten, sozusagen, als Nullwert, Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin in Gegenwart des Extraktionsmittels gemacht werden.

Nach EICHHOLTZ (1955) besitzt der Äthylalkohol neben anderen pharmakologischen Wirkungen auch eine spasmolytische Wirkung auf die glatte Muskulatur der Atemwege und des Uterus und wird mit anderen spasmolytischen Mitteln kombiniert.

Bei den Extrakten liegt ein Ethanolgehalt von etwa 30 % vor. Damit entsprechen Konzentrationen von 1,5 und 3,0 ml/l Ethanol in der Badflüssigkeit dem Ethanolgehalt von 5,0 und 10,0 ml/l Pflanzenextrakt. (Oder 5,0 und 10,0 ml/l einer 30 %igen Ethanollösung.) Es zeigt sich auch bei reinem Ethanol eine Verschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin zu höheren Werten. Es ergibt sich bei 1,075 ml/l Ethanol 99 % (≙ dem Ethanolgehalt von 3,6 ml/l Extrakt) ein $\Delta$ $ED_{50}$ von 4,3 µg/l Acetylcholin*; bei 1,5 ml/l Ethanol 99 % (≙ dem Ethanolgehalt von 5,0 ml/l Extrakt) eines von 8,7 µg/l Acetylcholin und bei 3,0 ml/l Ethanol 99 % (≙ dem Ethanolgehalt von 10,0 ml/l Extrakt) eines von

10,8 µg/l Acetylcholin (Abbildung 4 a und b, Tabelle 2). Die $\triangle ED_{50}$ von 1,075 und 1,5 ml/l Ethanol 99 % läßt sich an Hand der vorliegenden Stichproben statistisch nicht sichern.

Beim Vergleich der Tabelle 2 mit den anderen Tabellen sieht man, daß das $\triangle ED_{50}$ von 10,0 ml/l Ethanollösung 30 % nur wenig größer ist, als das der geringsten untersuchten Carminativum-Konzentration (0,625 ml/l).

An der antagonistischen Wirkung der Extrakte bzw. Carminativa ist also zu einem geringen Teil der als Extraktionsmittel verwendete Alkohol beteiligt. Die maximal mögliche Kontraktion wird bei diesen Konzentrationen an Ethanol wieder vollständig erreicht, sogar geringfügig auf 102,8 % (bei 5,0 ml/l Ethanol 30 %) und 100,8 % (bei 10,0 ml/l Ethanol 30 %) erhöht, (nach NIKLAS 1979* auf 106,5 % bei 3,6 ml/l Ethanollösung 30 %), was aber auch auf die Streuung der Versuche zurückgeführt werden kann.

Im Vergleich mit der Wirkung von 1,0 µg/l Atropin, hat die 30 %ige Ethanollösung in einer Konzentration von 5,0 ml/l 9 % von dessen Wirkung und bei 10,0 ml/l 12 % der Atropinwirkung.

---

* NIKLAS, H.: Tübingen 1979, unveröffentlichte Mitteilungen

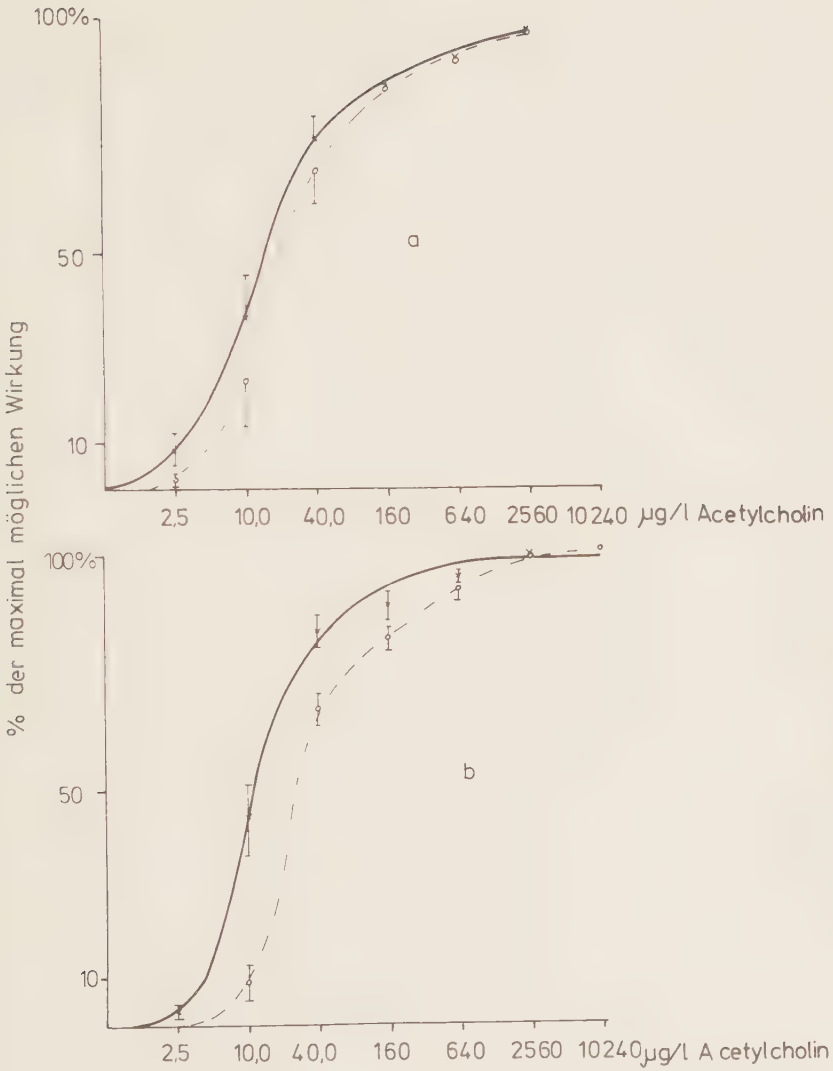


Abbildung 4: Einfluß von Ethanol auf die durch Acetycholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 1, m. l Ethanol ''
b) 3,0 ml/. Ethanol ''
x——x ohne Zusatz; o - - - - o in Anwesenheit von Ethanol
X ± SEM; N = 6

### 3.2.3. Einfluß von Extractum Aurantii

Die Extrakte aus den vorliegenden Pflanzen die laut Lehrbüchern der Pflanzenheilkunde (MADAUS 1938, BERGER 1952, GESSNER 1953, WEISS 1974) spasmolytisch wirken sollen, wurden daraufhin untersucht, ob sie die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums hemmen können und wie stark sie im einzelnen wirken. Ferner sollte geklärt werden, ob sie die maximal mögliche Wirkung des Acetylcholins beeinflußen können.

Von Extractum Aurantii wurden Dosis-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin in Anwesenheit von 2,5; 5,0 und 10,0 ml/l Extrakt in der Badlösung erstellt. In Anwesenheit von Extractum Aurantii vermag Acetylcholin seine volle Wirkung nicht mehr zu erreichen. Die maximale Kontraktion des Ileums wird bei 2,5 ml/l Extrakt um 14,4 %, bei 5,0 ml/l um 17,1 % und bei 10,0 ml/l Extrakt um 37,7 % vermindert. Weiterhin kommt es zu einer deutlichen Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin, wobei sich die $ED_{50}$ um 44,5; 94,3 und 92,8 µg/l Acetylcholin erhöhen. Diese Unterschiede der $ED_{50}$ mit und ohne Behandlung sind in allen drei Fällen statistisch signifikant ($P \leq 0{,}025$). Die Verschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin und die Hemmung des

Maximaleffektes zeigt Abbildung 5 a - c. Die Mittelwerte aus den einzelnen Versuchen und die Streuung des Mittelwertes sind in Tabelle 3 aufgeführt.

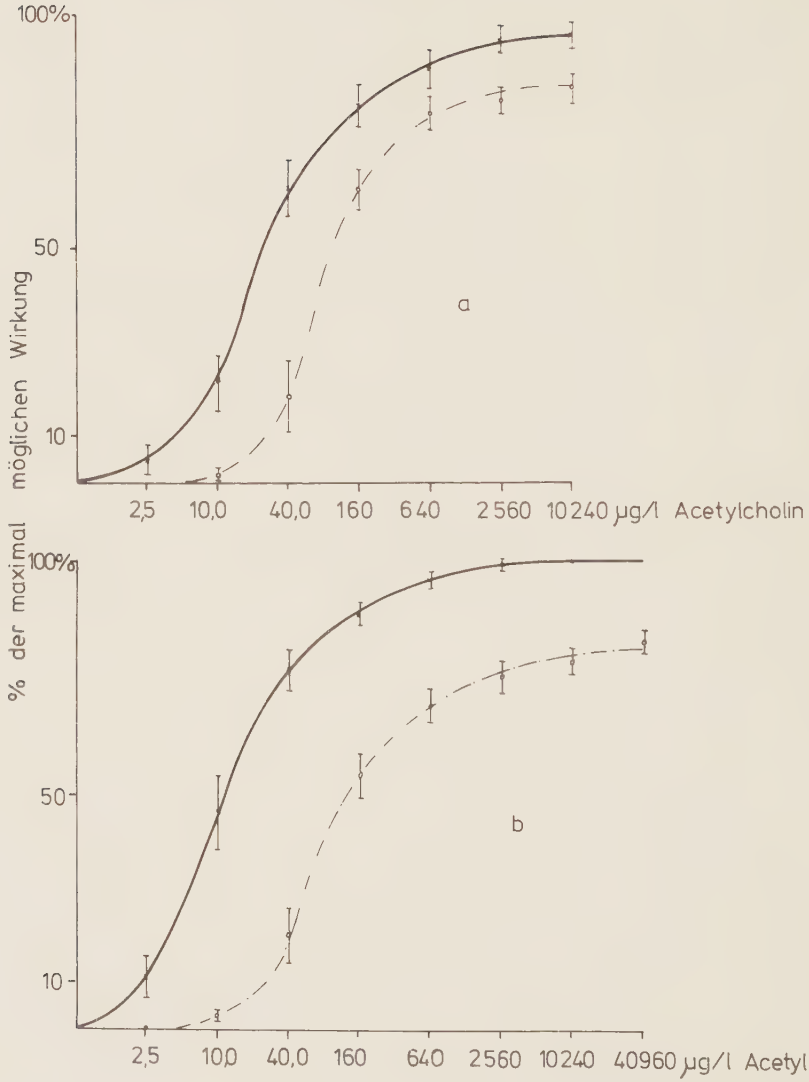
100%
50
10
% der maximal möglichen Wirkung
a
2,5
10,0
40,0
160
640
2560
10240 µg/l Acetylcholin
100%
50
10
% der maximal
b
2,5
10,0
40,0
160
640
2560
10240
40960 µg/l Acetylcholin

Abbildung 5

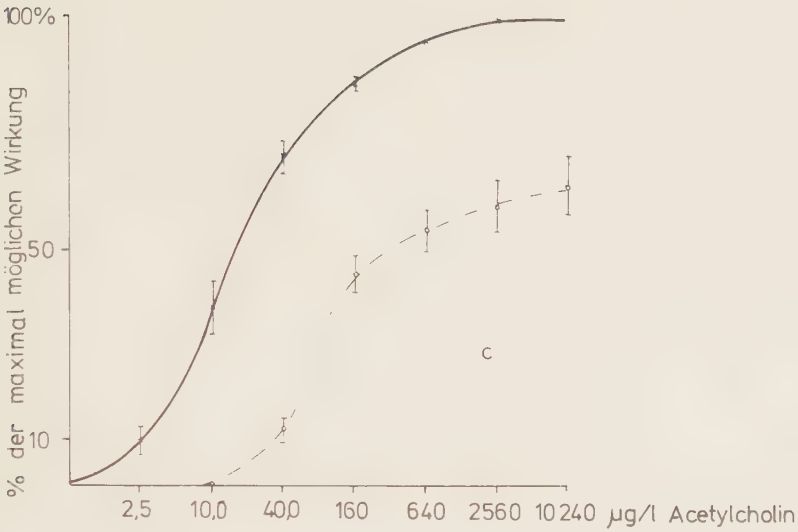


Abbildung 5: Einfluß von Extractum Aurantii auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 2,5 ml/l Extractum Aurantii

b) 5,0 ml/l Extractum Aurantii

c) 10,0 ml/l Extractum Aurantii

x————x ohne Zusatz

o- - - o in Anwesenheit von Extractum Aurantii

$\bar{x} \pm$ SEM, N = 6

Tabelle 3: Einfluß von Extractum Aurantii auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Extractum Aurantii | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Aurantii | $ED_{50}$ mit Extr. Aurantii | P | $\triangle$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung % * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 30,5 ± 9,5 | 75,0 ± 18,8 | $P \leq 0,025$ | 44,5 ± 11,3 | 85,6 ± 3,0 |
| 5,0 ml/l | 6 | 14,0 ± 2,8 | 108,3 ± 19,6 | $P \leq 0,025$ | 94,3 ± 18,4 | 82,9 ± 1,9 |
| 10,0 ml/l | 6 | 17,9 ± 4,2 | 110,0 ± 15,1 | $P \leq 0,025$ | 92,1 ± 18,2 | 62,3 ± 6,2 |

Acetylcholinkonzentration in µg/l; Mittelwerte ± SEM; N = Anzahl der Versuche

* maximale Acetylcholinwirkung (%) in Gegenwart von Extr. Aurantii

### 3.2.4. Einfluß von Extractum Carvi

Abbildung 6 a und b zeigt die Ergebnisse der Versuche mit 2,5 und 10,0 ml/l Extractum Carvi und die damit verbundene Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin. Extractum Carvi erhöht die $ED_{50}$ von Acetylcholin signifikant. Bei einer Konzentration von 2,5 ml/l beträgt die Erhöhung 23,1 µg/l ($P \leq 0{,}025$) und bei einer Konzentration von 10,0 ml/l 62,3 µg/l Acetylcholin ($P \leq 0{,}025$). Es vermindert die maximal mögliche Kontraktion des Acetylcholins um 8,4 % bei 10,0 ml/l. Bei 2,5 ml/l Extrakt ist hier noch kein signifikanter Einfluß zu erkennen. Die Mittelwerte für die einzelnen Kurven sind aus Tabelle 4 ersichtlich.

### 3.2.5. Einfluß von Extractum Chamomillae

Die Versuchsergebnisse, die mit 2,5 und mit 10,0 ml/l Extractum Chamomillae gefunden wurden, sind in den Abbildungen 7 a und b und der Tabelle 5 dargestellt. Auch Extractum Chamomillae vermag die Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin zu höheren Acetylcholinkonzentrationen hin zu verschieben. Es ergibt sich ein $\Delta ED_{50}$ von 46,5 µg/l bei 2,5 bzw. von 93,7 µg/l Acetylcholin bei 10,0 ml/l Extrakt. Bei beiden Extraktkonzentrationen ist $P \leq 0{,}025$. Die maximal mögliche Wirkung des Acetylcholins ohne Antagonist kann bei beiden Konzentrationen nicht

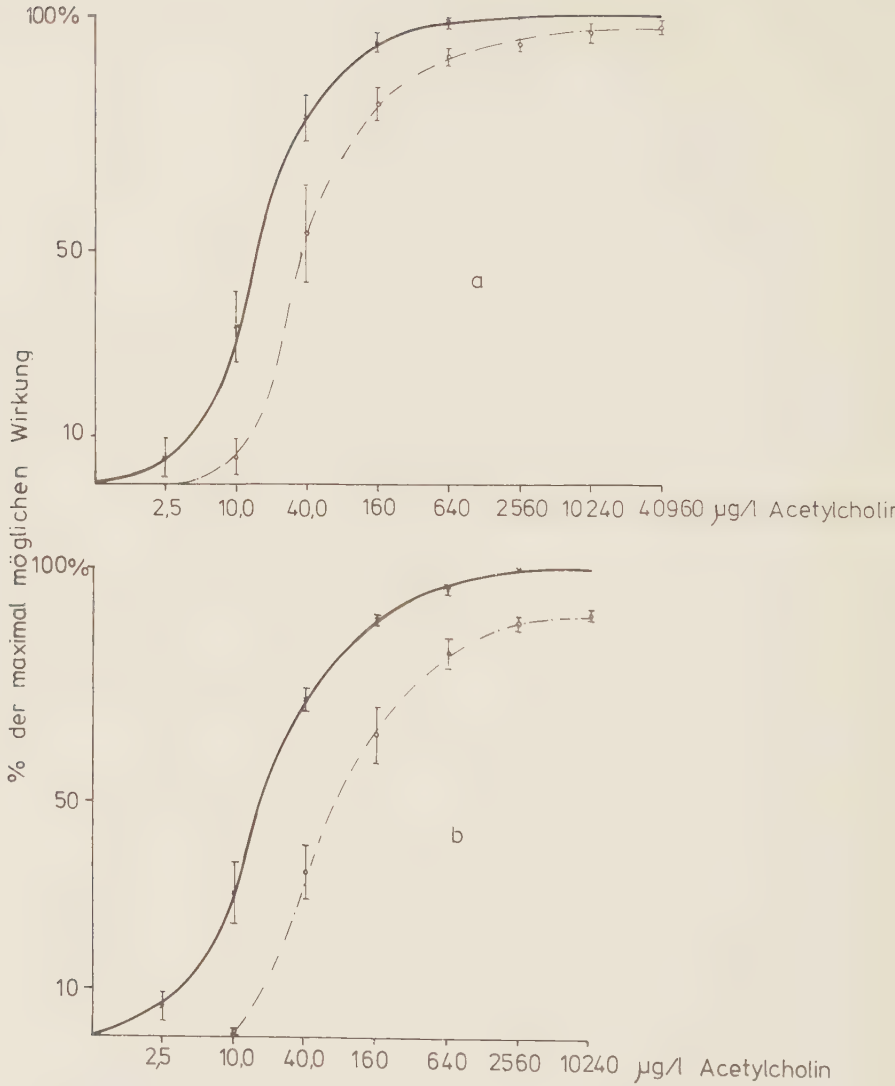


Abbildung 6: Einfluß von Extractum Carvi auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 2,5 ml/l Extractum Carvi
b) 10,0 ml/l Extractum Carvi
x———x ohne Zusatz
o - - -o in Anwesenheit von Extractum Carvi
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

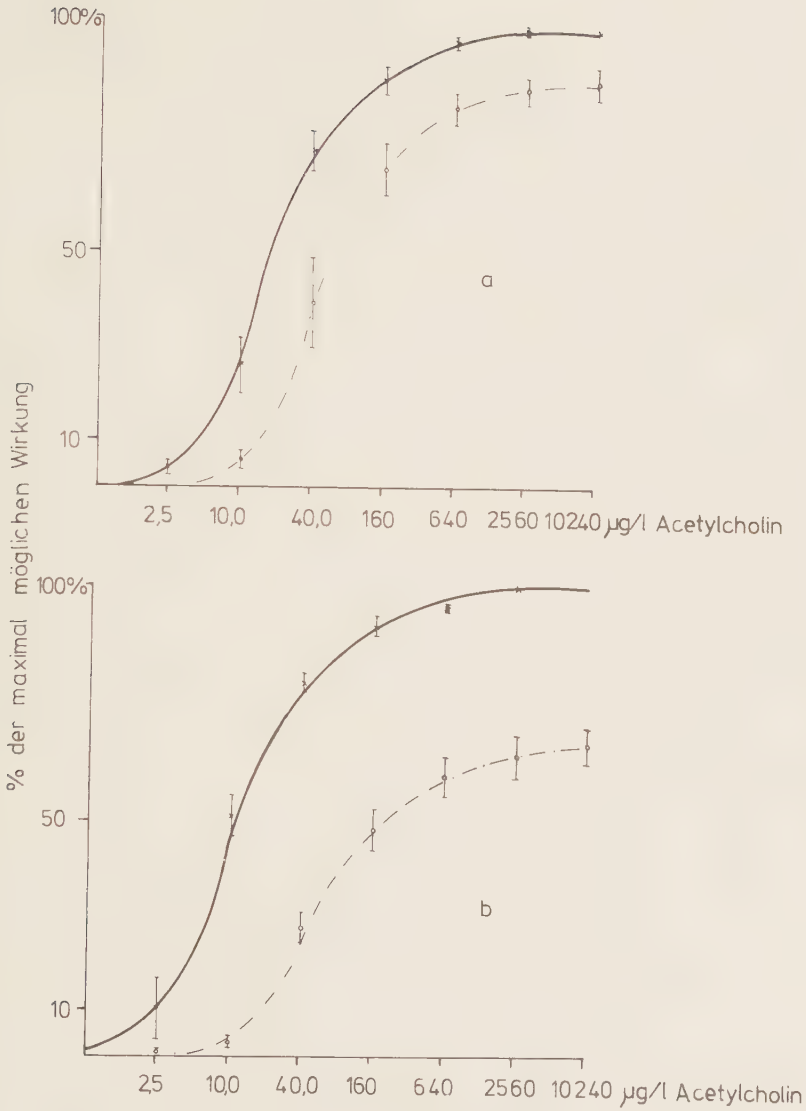


Abbildung 7: Einfluß von Extractum Chamomillae auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinileums

a) 2,5 ml/l Extractum Chamomillae; b) 10,0 ml/l Extractum Chamomillae; x————x ohne Zusatz; o - - - o in Anwesenheit von Extractum Chamomillae; $\bar{x} \pm$ SEM; N 6

Tabelle 4: Einfluß von Extractum Carvi auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Extractum Carvi | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Carvi | $ED_{50}$ mit Extr. Carvi | P | $\Delta ED_{50}$ | maximale Wirkung %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 16,8 ± 4,4 | 39,9 ± 11,5 | $P \leq 0{,}025$ | 23,1 ± 8,0 | 100,0 ± 2,1 |
| 10,0 ml/l | 6 | 20,0 ± 3,8 | 82,3 ± 29,3 | $P \leq 0{,}025$ | 62,3 ± 26,1 | 91,6 ± 0,9 |

Tabelle 5: Einfluß von Extractum Chamomillae auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Extr. Chamomillae | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Chamom. | $ED_{50}$ mit Extr. Chamom. | P | $\Delta ED_{50}$ | maximale Wirkung %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 22,4 ± 4,6 | 68,8 ± 19,7 | $P \leq 0{,}025$ | 46,5 ± 16,2 | 89,0 ± 2,4 |
| 10,0 ml/l | 6 | 10,0 ± 1,7 | 103,7 ± 25,7 | $P \leq 0{,}025$ | 93,7 ± 26,0 | 70,4 ± 3,3 |

Acetylcholinkonzentrationen in µg/l, Mittelwerte ± SEM; N - Anzahl der Versuche

* maximale Acetylcholinwirkung (%) in Gegenwart von Extractum Carvi bzw. Extractum Chamomillae

mehr erreicht werden. Es ergibt sich eine Verminderung um 11 bzw. 29, 6 %.

### 3.2.6. Einfluß von Extractum Foeniculi

Auch Extractum Foeniculi vermag die Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin nach rechts zu verschieben. Die Erhöhung der $ED_{50}$ von Acetylcholin ist hier bei beiden Konzentrationen die geringste von allen untersuchten Pflanzenextrakten. Sie beträgt bei 2,5 ml/l Extractum Foeniculi 16,2 und bei 10,0 ml/l 46,6 µg/l Acetylcholin ($P \leq 0{,}025$ bei beiden Konzentrationen). Ebenfalls ist eine Hemmung der maximalen Wirkung von Acetylcholin von 1,8 bzw. 8,7 % zu erkennen. Die $ED_{50}$ mit und ohne Behandlung sowie die maximale Wirkung zeigt Tabelle 6 und die zugehörigen Abbildungen 8 a und b.

### 3.2.7. Einfluß von Extractum Menthae

Die Ergebnisse mit Extractum Menthae in den Konzentrationen 2,5 und 10,0 ml/l in der Badflüssigkeit, sind in Abbildung 9 a und b und der dazugehörenden Tabelle 7 dargestellt. Es ergibt sich auch hier bei beiden Konzentrationen eine statistisch signifikante Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin Mit einem $\Delta$ $ED_{50}$ von 172 µg/l Acetylcholin ergibt sich

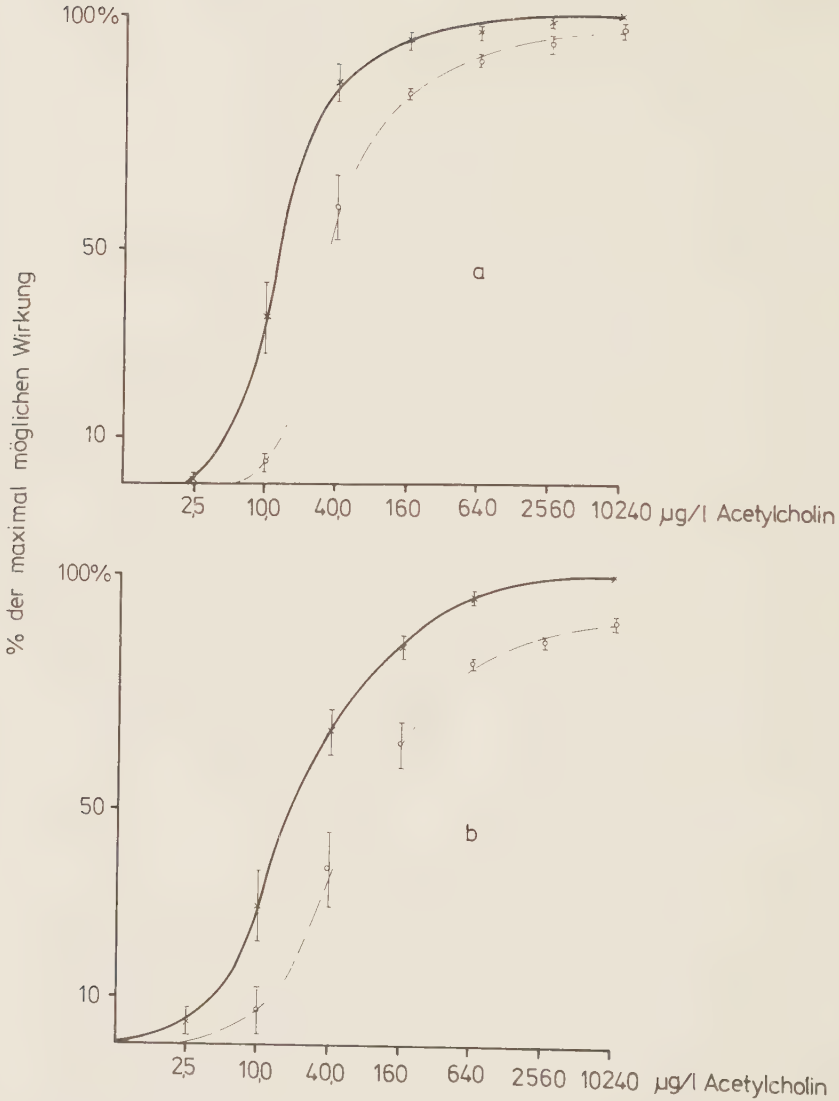


Abbildung 8: Einfluß von Extractum Foeniculi auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums
a) 2,5 ml/l Extractum Foeniculi
b) 10,0 ml/l Extractum Foeniculi
x————x ohne Zusatz
o - - -o in Anwesenheit von Extractum Foeniculi
x ± SEM; N = 6

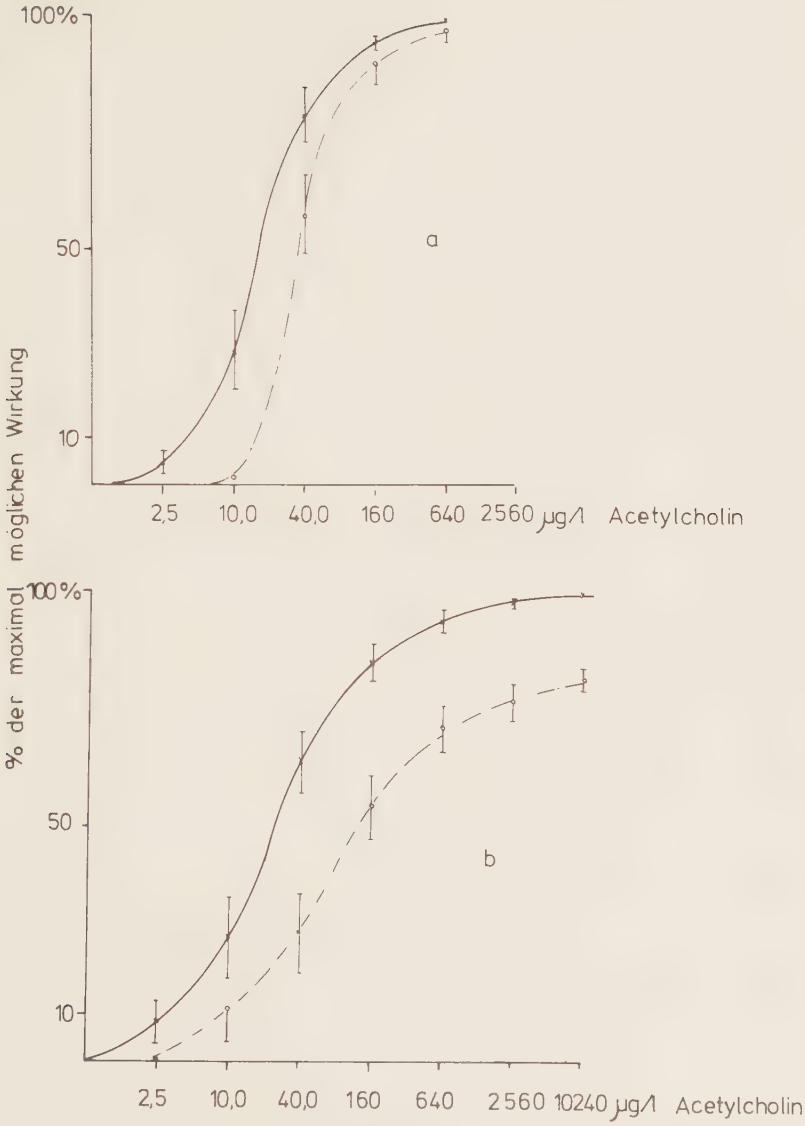


Abbildung 9: Einfluß von Extractum Menthae auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums
a) 2,5 ml/l Extractum Menthae
b) 10,0 ml/l Extractum Menthae
x———x ohne Zusatz
o - - -o in Anwesenheitvon Extractum Menthae
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6 - 8

Tabelle 6: Einfluß von Extractum Foeniculi auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Merrschweinchenileums

| Konzentration von Extr. Foeniculi | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Foeniculi | $ED_{50}$ mit Extr. Foeniculi | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung % * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 15,2 ± 2,6 | 33,1 ± 6,4 | $P \leq 0,025$ | 16,2 ± 5,0 | 98,2 ± 2,0 |
| 10,0 ml/l | 6 | 24,4 ± 6,9 | 71,0 ± 23,3 | $P \leq 0,025$ | 46,6 ± 16,7 | 91,3 ± 4,0 |

Tabelle 7: Einfluß von Extractum Menthae auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Extractum Menthae | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Menthae | $ED_{50}$ mit Extr. Menthae | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung % * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 18,3 ± 4,0 | 42,9 ± 7,2 | $P \leq 0,025$ | 24,6 ± 4,5 | 99,0 ± 1,6 |
| 10,0 ml/l | 8 | 28,4 ± 7,3 | 200 ± 80 | $P \leq 0,005$ | 172 ± 74 | 80,4 ± 4,4 |

Acetylcholinkonzentration in µg/l; Mittelwerte ± SEM; N = Anzahl der Versuche

* maximale Acetylcholinwirkung (%) in Gegenwart von Extractum Foeniculi bzw. Extractum Menthae

bei 10,0 ml/l Extractum Menthae der stärkste Effekt ($P \leq 0{,}005$). Bei 2,5 ml/l Extrakt ergibt sich ein $\Delta ED_{50}$ von 24,6 µg/l, das mit $P \leq 0{,}025$ signifikant ist. Die Hemmung des Maximaleffektes von Acetylcholin ohne Zusatz ist bei 10,0 ml/l Extractum Menthae mit 19,6 % die zweitstärkste der untersuchten Einzelextrakte, während die bei 2,5 ml/l nur 1 % beträgt.

### 3.2.8. Einfluß von Carminativum

In den vorhergegangenen Versuchen konnte gezeigt werden, daß die untersuchten Pflanzenextrakte sowohl die Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin nach rechts, also zu höheren Werten hin verschieben und damit dessen $ED_{50}$ erhöhen, als auch den maximal Effekt verringern.

Da sich sehr viele Kombinationen aus pflanzlichen Arzneimitteln auf dem Markt befinden, war es interessant zu wissen, wie sich die hier vorliegenden Pflanzenextrakte in Kombination verhalten würden. Ist die Wirkung stärker oder schwächer als bei den Einzelextrakten?

Die Firma Chemische Fabrik Dr. Hetterich, Fürth stellte uns freundlicherweise Versuchsmuster eines neu formulierten Carminativums zur Verfügung, dessen genaue Zusammensetzung unter Lösungen beschrieben ist.

Die Ergebnisse der Untersuchungen mit Carminativum zeigt Abbildung 10 a - e. Es zeigt sich grundsätzlich ein ähnliches Bild wie bei den Untersuchungen mit den Einzelextrakten. Bei den drei niedrigsten Konzentrationen von Carminativum (0,625; 1,25 und 2,5 ml/l) findet sich eine signifikante Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin mit einem $\triangle ED_{50}$ von 9,6; 10,4 und 17,2 µg/l Acetylcholin. Das gleiche gilt bei Anwendung von 5,0 und 10,0 ml/l. Diese Konzentrationen führen zu einem $\triangle ED_{50}$ von 51,2 und 100 µg/l Acetycholin. Über einer Konzentration von 2,5 ml/l Carminativum zeigt sich auch wieder, daß die beim Kontrollversuch zu erzielende maximale Wirkung des Acetylcholins nicht mehr zu erreichen ist. Der bei 10,0 ml/l maximal erreichbare Effekt beträgt nur noch 61,7 % der Kontrolle (Tabelle 8).

### 3.2.9. Einfluß von Carminativum Hetterich

Zum Vergleich mit Carminativum wurde auch die derzeit sich im Handel befindliche Formulierung von Carminativum Hetterich$^{(R)}$, das noch weitere Pflanzenextrakte enthält, auf seine Wirkung gegenüber Acetylcholin geprüft.

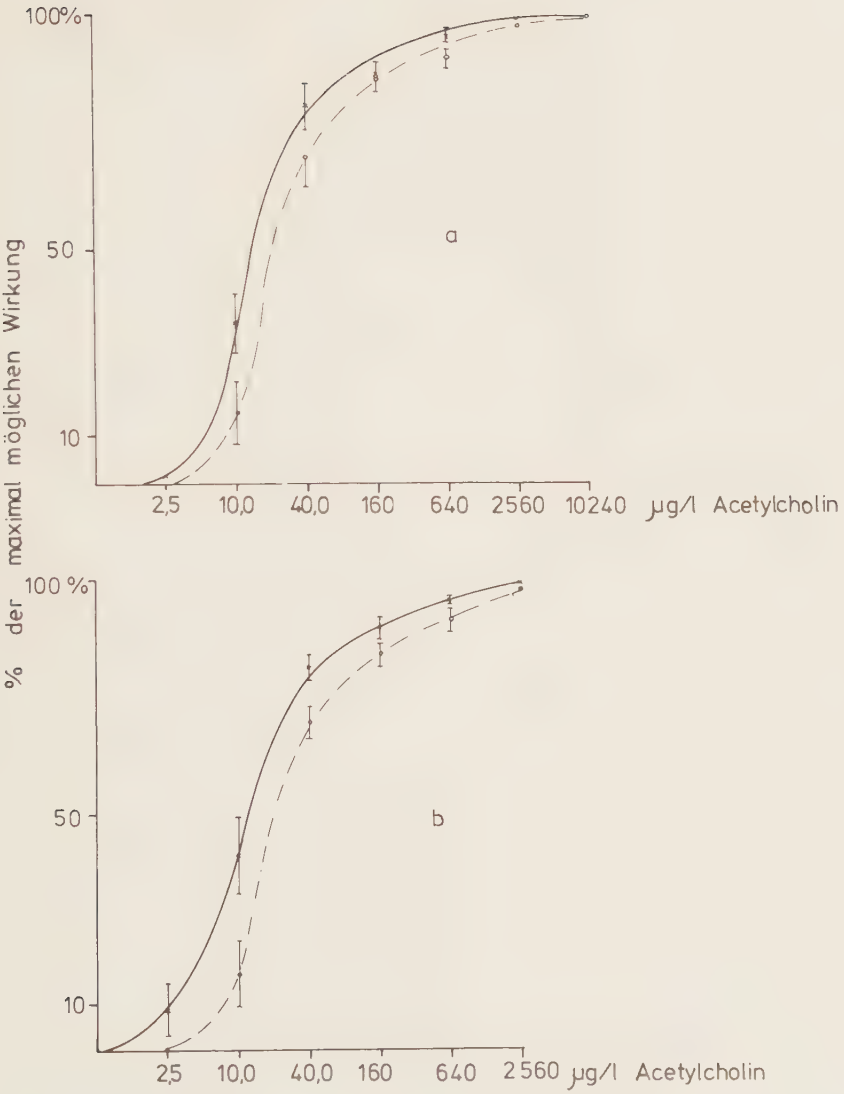


Abbildung 10

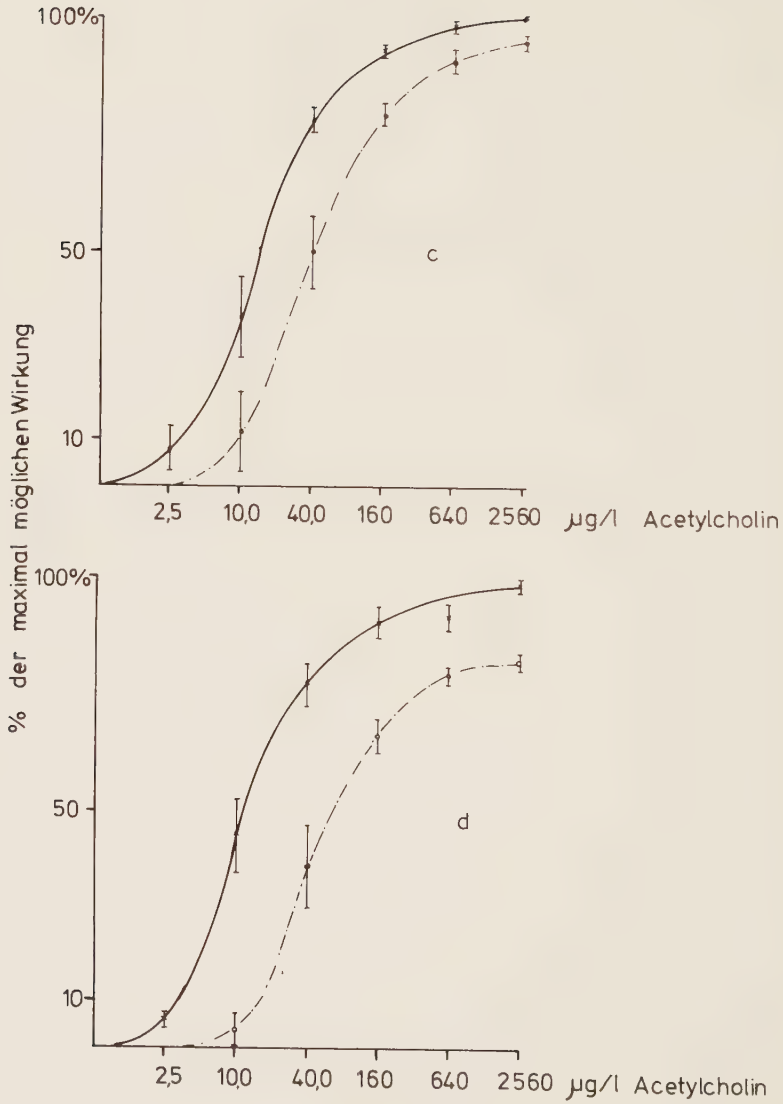


Abbildung 10

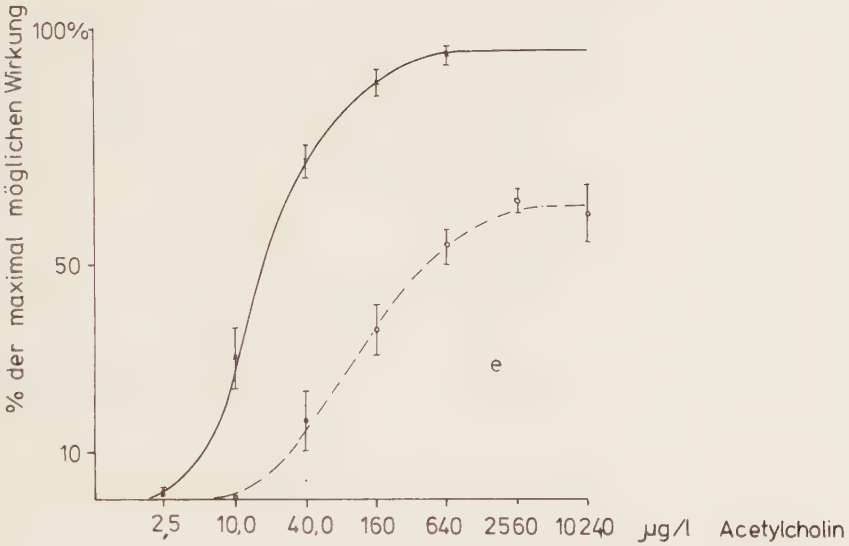


Abbildung 10: Einfluß von Carminativum auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 0,625 ml/l Carminativum

b) 1,25 ml/l Carminativum

c) 2,5 ml/l Carminativum

d) 5,0 ml/l Carminativum

e) 10,0 ml/l Carminativum

x———x ohne Zusatz

o - - -o in Anwesenheit von Carminativum

$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

Tabelle 8: Einfluß von Carminativum in 5 verschiedenen Konzentrationen auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin ausgelösten Kontraktion des isolierten Meerschweinchen-ileums

| Konzentration Carminativum | N | $ED_{50}$ ohne Carminativum | $ED_{50}$ mit Carminativum | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,625 ml/l | 6 | 17,2 ± 3,4 | 26,6 ± 6,3 | $P \leq 0{,}025$ | 9,6 ± 3,4 | 99,6 ± 0,8 |
| 1,25 ml/l | 6 | 12,6 ± 2,3 | 23,0 ± 3,3 | $P \leq 0{,}025$ | 10,4 ± 1,5 | 98,6 ± 0,7 |
| 2,5 ml/l | 6 | 16,1 ± 2,7 | 33,3 ± 6,1 | $P \leq 0{,}025$ | 17,2 ± 3,5 | 94,2 ± 1,6 |
| 5,0 ml/l | 6 | 13,2 ± 2,9 | 64,4 ± 12,8 | $P \leq 0{,}025$ | 51,2 ± 10,7 | 83,0 ± 1,5 |
| 10 ml/l | 6 | 17,0 ± 2,4 | 117,2 ± 24,0 | $P \leq 0{,}025$ | 100 ± 24,7 | 61,7 ± 2,2 |

Acetylcholinkonzentrationen in µg/l; Mittelwerte ± SEM; N = Anzahl der Versuche

* maximale Acetylcholnwirkung (%) in Gegenwart von Carminativum

Die Dosis-Wirkungs-Kurven für die kontraktile Wirkung von Acetylcholin ohne und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Carminativum Hetterich sind in Abbildung 11 a - e dargestellt. Bereits die niedrigste untersuchte Konzentration von 0,625 ml/l führt zu einer Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin von 16,3 auf 32,0 µg Acetylcholin/l Badflüssigkeit, was eine Differenz von 15,7 µg/l ergibt (Abbildung 11 a). Die Dosis-Wirkungs-Kurven in Anwesenheit der beiden nächsten untersuchten Konzentrationen an Carminativum Hetterich 1,25 und 2,5 ml/l sind nicht wesentlich verschieden von der mit 0,625 ml/l (16,6 und 15,4 µg/l Acetylcholin (Abbildung 11 b und c). Erst bei den höheren Konzentrationen 5,0 und 10,0 ml/l zeigt sich eine weitere Verschiebung nach rechts (Abbildung 11 d und e). 5 ml/l ergibt ein $\Delta ED_{50}$ von 34,9 µg/l und 10,0 ml/l eines von 152 µg/l. Alle diese $ED_{50}$ ergeben im Wilcoxon-Test ein $P \leq 0{,}025$. Dadurch, daß als 50 % Wirkung in Anwesenheit der Extrakte die Hälfte des hier noch erreichbaren Effektes angenommen wird, sind die aus den Einzelkurven errechneten $\Delta ED_{50}$ geringer als die in der Durchschnittskurve optisch zu erwartenden.

Bei den höheren Konzentrationen fällt eine deutliche Verringerung des Maximaleffektes des Acetylcholins ins Auge. Es werden bei 5,0 ml/l noch 72,4 % und bei 10,0

ml/l nur noch 59,1 % der möglichen Wirkung erreicht. Bei den niederen Konzentrationen ist der Unterschied zum Kontrollwert nur unwesentlich, so werden bei 0,625 ml/l noch 98,8 %, bei 1,25: 99,5 % und bei 2,5 ml/l 94 % erreicht.

Die einzelnen Zahlenwerte für alle untersuchten Konzentrationen von Carminativum Hetterich sind in Tabelle 9 zusammengestellt.

### 3.2.10. Quantitativer Vergleich der Hemmwirkung der Extrakte auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion

Bei 2,5 ml/l Extrakt ergibt sich für die Hemmung der durch Acetylcholin ausgelösten Kontraktion mit Hilfe von $\triangle$ log $ED_{50}$ folgende Reihenfolge:

Extractum Menthae
Extractum Aurantii
Extractum Chamomillae
Carminativum Hetterich
Extractum Carvi
Extractum Foeniculi
Carminativum

Bei der Varianzanalyse unterscheiden sich Extractum Carvi, Extractum Foeniculi und Carminativum signifikant von Extractum Menthae ($P \leq 0,05$). Kein statistisch abgesicherter Unterschied besteht zwischen Extractum

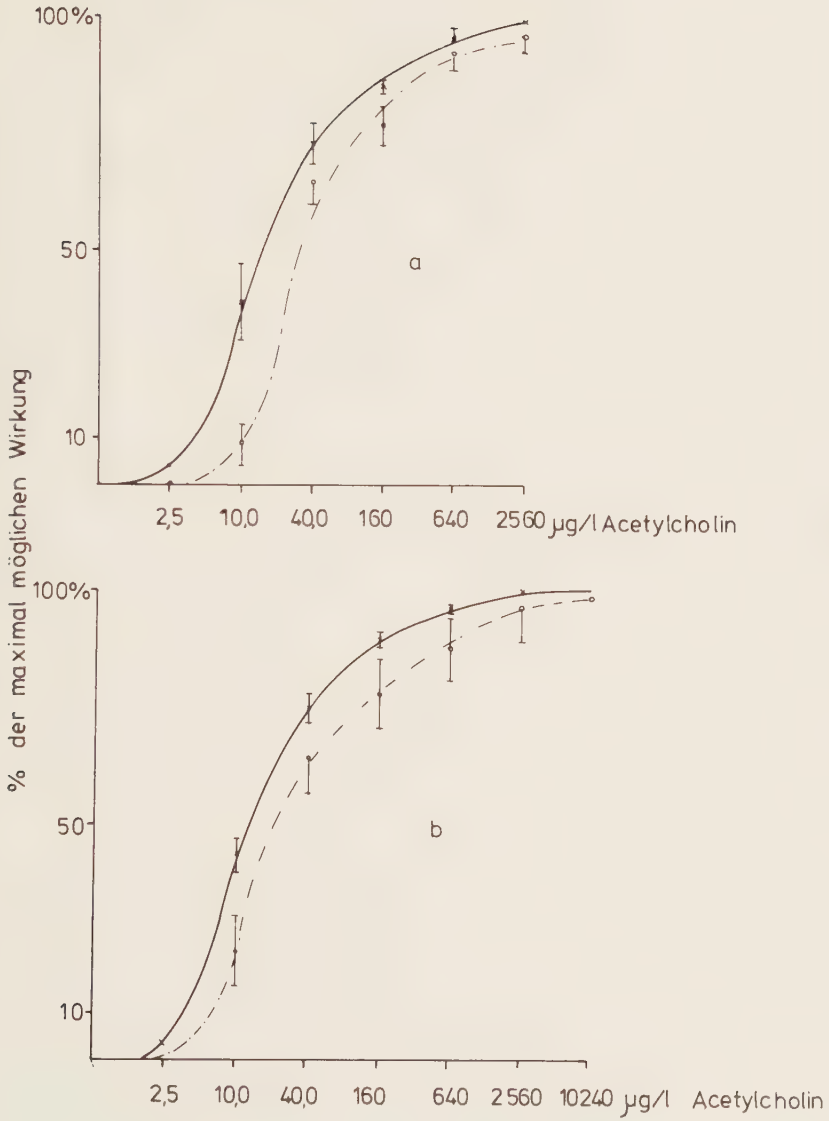


Abbildung 11

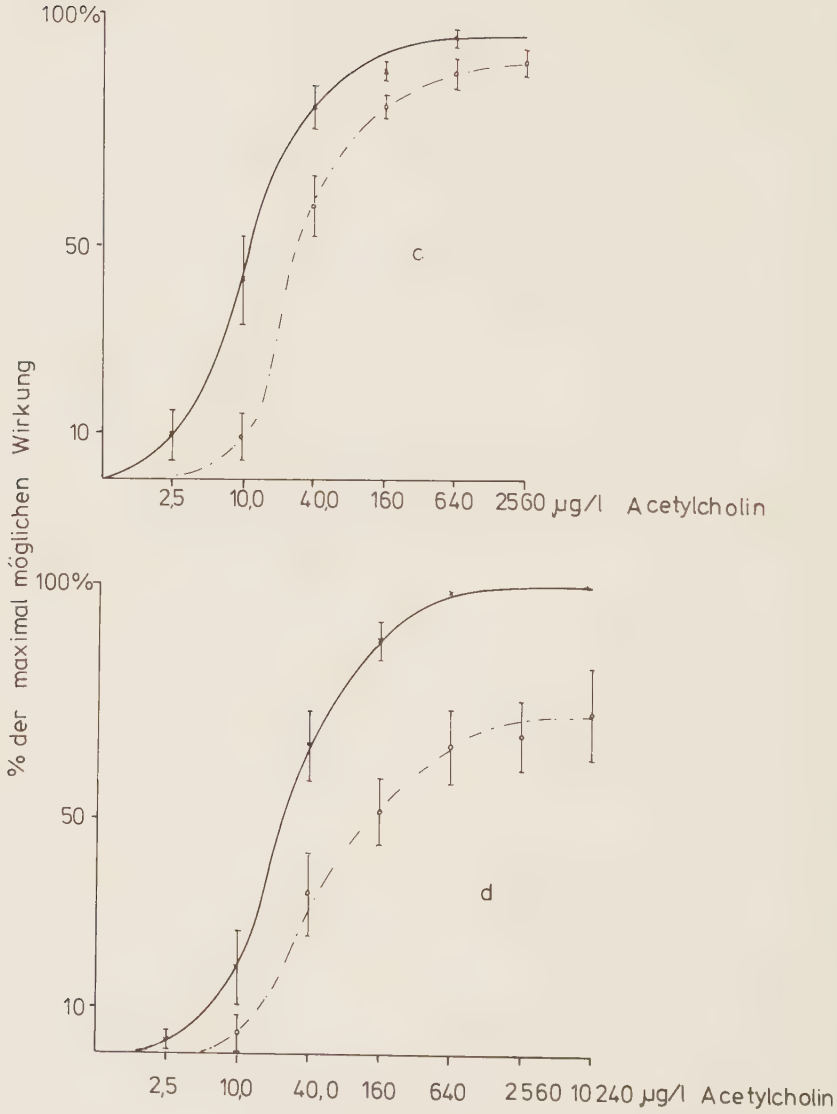


Abbildung 11

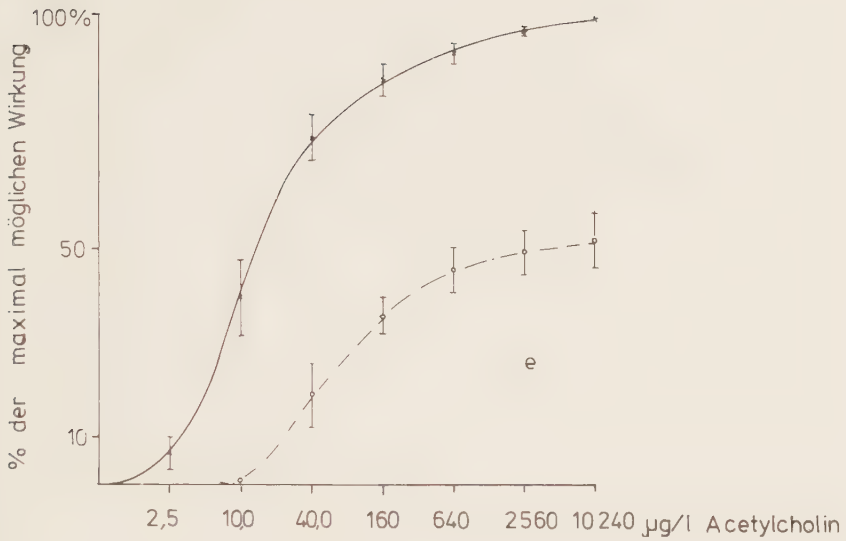


Abbildung 11: Einfluß von Carminativum Hetterich auf die durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 0,625 ml/l Carminativum Hetterich

b) 1,25 ml/l Carminativum Hetterich

c) 2,5 ml/l Carminativum Hetterich

d) 5,0 ml/l Carminativum Hetterich

e) 10,0 ml/l Carminativum Hetterich

x———x ohne Zusatz

o - - -o in Anwesenheit von Carminativum Hetterich

$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6 - 7

Tabelle 9: Einfluß verschiedener Dosen Carminativum Hetterich auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin ausgelösten Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Carminativum Hetterich | N | $ED_{50}$ ohne Carminativum Hetterich | $ED_{50}$ mit Carminativum Hetterich | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung % * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,625 ml/l | 6 | 16,3 ± 3,8 | 32,0 ± 3,5 | P ≤ 0,025 | 15,7 ± 3,3 | 98,8 ± 2,1 |
| 1,25 ml/l | 6 | 13,2 ± 1,7 | 29,8 ± 7,5 | P ≤ 0,025 | 16,6 ± 5,9 | 99,5 ± 1,1 |
| 2,5 ml/l | 7 | 14,3 ± 4,6 | 29,8 ± 6,3 | P ≤ 0,01 | 15,4 ± 2,7 | 94,0 ± 1,4 |
| 5,0 ml/l | 7 | 26,8± 6,8 | 61,7 ± 13,8 | P ≤ 0,01 | 34,9 ± 7,9 | 72,4 ± 5,3 |
| 10,0 ml/l | 7 | 15,4 ± 3,2 | 167,4 ± 65,2 | P ≤ 0,01 | 152 ± 63,7 | 59,1 ± 2,8 |

Acetylcholinkonzentration in µg/l; Mittelwerte ± SEM; N = Anzahl der Versuche

* maximale Acetylcholinwirkung (%) in Gegenwart von Carminativum Hetterich

Menthae, Extractum Aurantii, Extractum Chamomillae und Carminativum Hetterich, genauso wenig unterscheiden sich die Wirkungen von Extractum Aurantii, Extractum Chamomillae, Carminativum Hetterich, Extractum Carvi, Extractum Foeniculi und Carminativum signifikant voneinander.

Anders sieht die Reihenfolge, die sich durch $\Delta \log ED_{50}$ ergibt, bei 10,0 ml/l aus:

Extractum Chamomillae

Carminativum Hetterich

Extractum Aurantii

Carminativum

Extractum Menthae

Extractum Carvi

Extractum Foeniculi

Hier ist Extractum Foeniculi signifikant schwächer als Extractum Chamomillae und Carminativum Hetterich ($P \leq 0{,}05$), während zwischen allen übrigen kein eindeutiger Unterschied besteht.

Oben aufgeführte Reihenfolge der $\Delta \log ED_{50}$, also der Quotienten $\frac{ED_{50} \text{ mit Zusatz}}{ED_{50} \text{ ohne Zusatz}}$ unterscheiden sich von der Reihenfolge, die sich mit der $\Delta ED_{50}$ ergibt. Aus mathematischen Gründen wurden aber für die Varianzanalyse die Logarithmen der $ED_{50}$ verwendet, da die Vermutung nahe liegt, daß es sich um eine log-normale Verteilung handelt und nicht um eine Normalverteilung.

Tabelle 10: Vergleich der Wirkung der Pflanzenextrakte von Carminativum und Carminativum Hetterich und von Ethanol mit 1,0 µg/l Atropin (in % der $ED_{50}$ von 1,0 µg/l Atropin).

| Extrakt \ Extraktkonzentration | % der Wirkung von 1,0 µg/l Atropin | | |
|---|---|---|---|
| | 2,5 ml/l | 5,0 ml/l | 10,0 ml/l |
| Extractum Aurantii | 48 % | 102 % | 99 % |
| Extractum Carvi | 25 % | - | 67 % |
| Extractum Chamomillae | 50 % | - | 101 % |
| Extractum Foeniculi | 17 % | - | 50 % |
| Extractum Menthae | 26 % | - | 186 % |
| Carminativum | 18 % | 53 % | 108 % |
| Carminativum Hetterich | 19 % | 55 % | 164 % |
| Ethanollösung 30 % | - | 9 % | 12 % |

### 3.3. Prüfung auf Reversibilität der Wirkung von Carminativum

Die komplexe Zusammensetzung der Pflanzenextrakte läßt befürchten, daß die Hemmung der Acetylcholinkontraktion auch durch Veränderungen oder gewisse Schädigungen des Darmes (z.B. Adstringierung der Schleimhautoberflächen) irreversibel erfolgen könnte und das Darmpräparat nach Durchführung der Behandlung auf einen kontraktionsauslösenden Stimulus weniger stark anspricht. So fand SCHUSTER (1971) bei Extractum Tormentillae DAB 6 zwar eine Spasmolyse, aber gleichzeitig eine Hemmung weiterer Kontraktionen, was er hier und bei anderen Adstringentien auf "eine Abdeckung der Versuchsorgane gegenüber dem umgebenden Medium" zurückführt.

Aus Gründen der übersichtlicheren Darstellung und um die relativ geringen Abstände der einzelnen Dosis-Wirkungs-Kurven auseinanderzuziehen wurde in Abbildung 12 der Maßstab verdoppelt und auf die Einzeichnung der einzelnen Mittelwerte und der SEM verzichtet.

Um eine Schädigung des Ileums durch die Pflanzenextrakte auszuschließen, wurden mit Carminativum Versuche gemacht, bei denen an ein und demselben Darmstück nach Abschluß der Behandlung mit Carminativum weitere Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin, nunmehr wieder

ohne Zusatz von Carminativum erstellt wurden. Bei diesen Versuchen kam eine Carminativum-Konzentration von 0,625 ml/l zur Anwendung. Bei höheren Konzentrationen wäre ein irreversibler Effekt sicher deutlicher zu erkennen gewesen, diese relativ niedrige Konzentration liegt näher bei der therapeutische verwendeten.

Wie aus Abbildung 12 b hervorgeht, ist die Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin durch Carminativum aus den ersten Versuchen reproduzierbar. (Vergleiche Abbildung 10 a.)

Die $ED_{50}$ für 0,625 ml/l Carminativum in dieser Versuchsserie beträgt 59,9 $\pm$ 20,8 µg/l Acetylcholin gegenüber 9,6 $\pm$ 3,4 µg/l bei der ersten Serie (s. Tabelle 8), d.h. die Wirkung dieser geringen Konzentration Carminativum tritt hier deutlicher hervor. Das P im Wilcoxon-Test für verbundene Mittelwerte ist hier $\leq$ 0,025 (einseitige Fragestellung), so daß trotz der großen Streuung auch hier die Differenz statistisch abgesichert ist.

Die erste Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin ohne Zusatz, nach abgeschlossener Behandlung, liegt wieder weiter links als die bei welcher Carminativum anwesend war, aber weiter rechts als die vor der Behand-

lung erstellte. Die $ED_{50}$ dieser ersten Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin nach Behandlung ist um 25,7 µg/l höher als die der Kontrollkurve vor der Behandlung. Bei der zweiten und dritten Kurve, die nach der Behandlung erstellt wurden, erhöht sich die $ED_{50}$ jedesmal (um 48,9 bzw. 60,5 µg/l) so daß sich bei der dritten Kurve nach Behandlung die gleiche $ED_{50}$ ergibt, wie in Anwesenheit von Carminativum (Tabelle 11). Die 2. und 3. Dosis-Wirkungs-Kurve nach der Behandlung unterscheiden sich deutlich von der Kontrollkurve vor der Behandlung.

Da bei dieser Prüfung ein und dasselbe Darmstück wiederholt zur Kontraktion gebracht wurde und dazwischen häufige Waschvorgänge liegen, war damit zu rechnen, daß bei dieser langdauernden Prozedur (mindestens 90 min) bereits ein unbehandelter Darm bei wiederholter Stimulation an Ansprechbarkeit gegenüber Acetylcholin einbüßt. Deshalb wurde gleichzeitig in der Parallelapparatur ein Kontrollversuch durchgeführt, der in Abbildung 12 a aufgezeichnet ist.

Dabei zeigte sich, wie die Werte aus Tabelle 11 Spalte B ergeben, daß sich die $ED_{50}$ von Acetylcholin bei aufeinanderfolgenden Dosis-Wirkungs-Kurven bereits im Kontrollversuch immer mehr zu höheren Werten hin verschiebt. Es besteht ein geringer Unterschied ($\Delta ED_{50} = 2,6 \pm 9,7$ µg/l Acetylcholin) zwischen

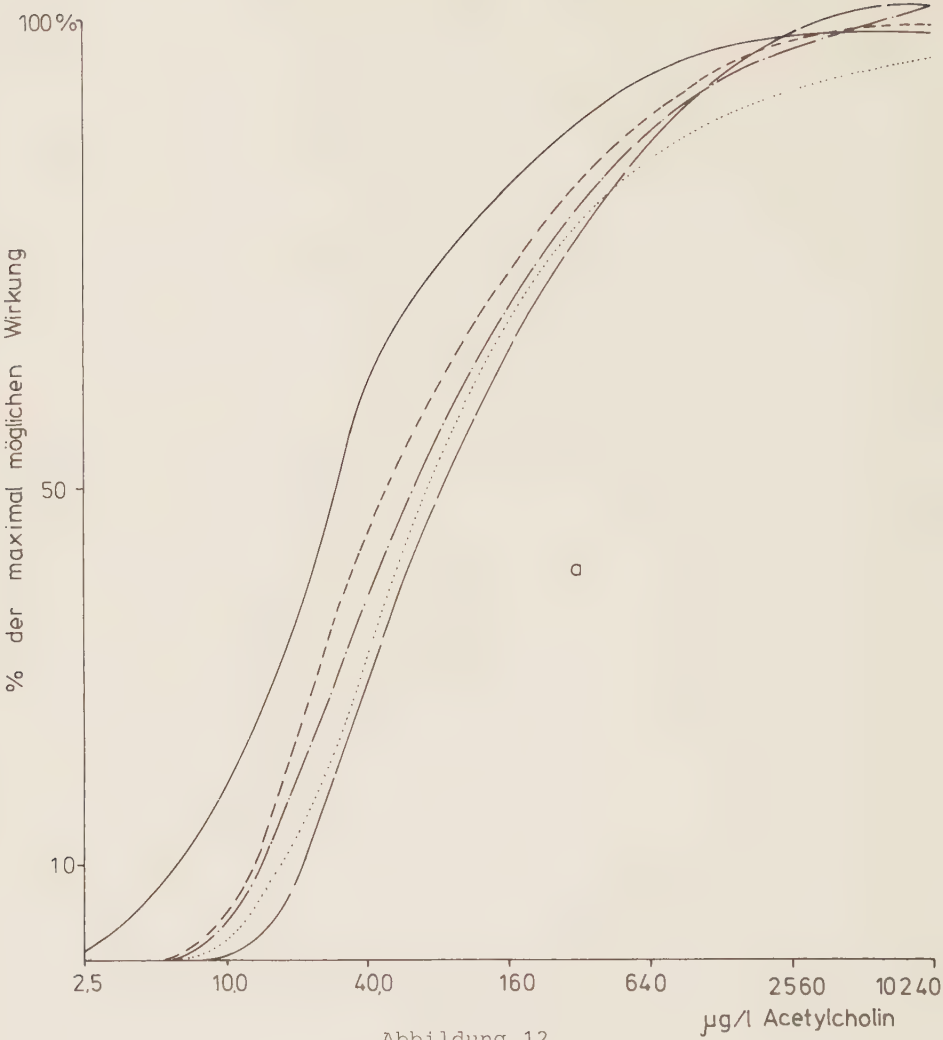


Abbildung 12

Prüfung auf Reversibilität der durch Carminativum hervorgerufenen Hemmung der kontraktilen Wirkung von Acetylcholin am isolierten Meerschweinchenileum

a) Kontrollversuch ohne Carminativum

——————— 1. Dosis-Wirkungs-Kurve ohne Carminativum

- - - - - - - - - 2. Dosis-Wirkungs-Kurve ohne Carminativum

—·—·—·— 3. Dosis-Wirkungs-Kurve ohne Carminativum

· · · · · 4. Dosis-Wirkungs-Kurve ohne Carminativum

— — — — — 5. Dosis-Wirkungs-Kurve ohne Carminativum

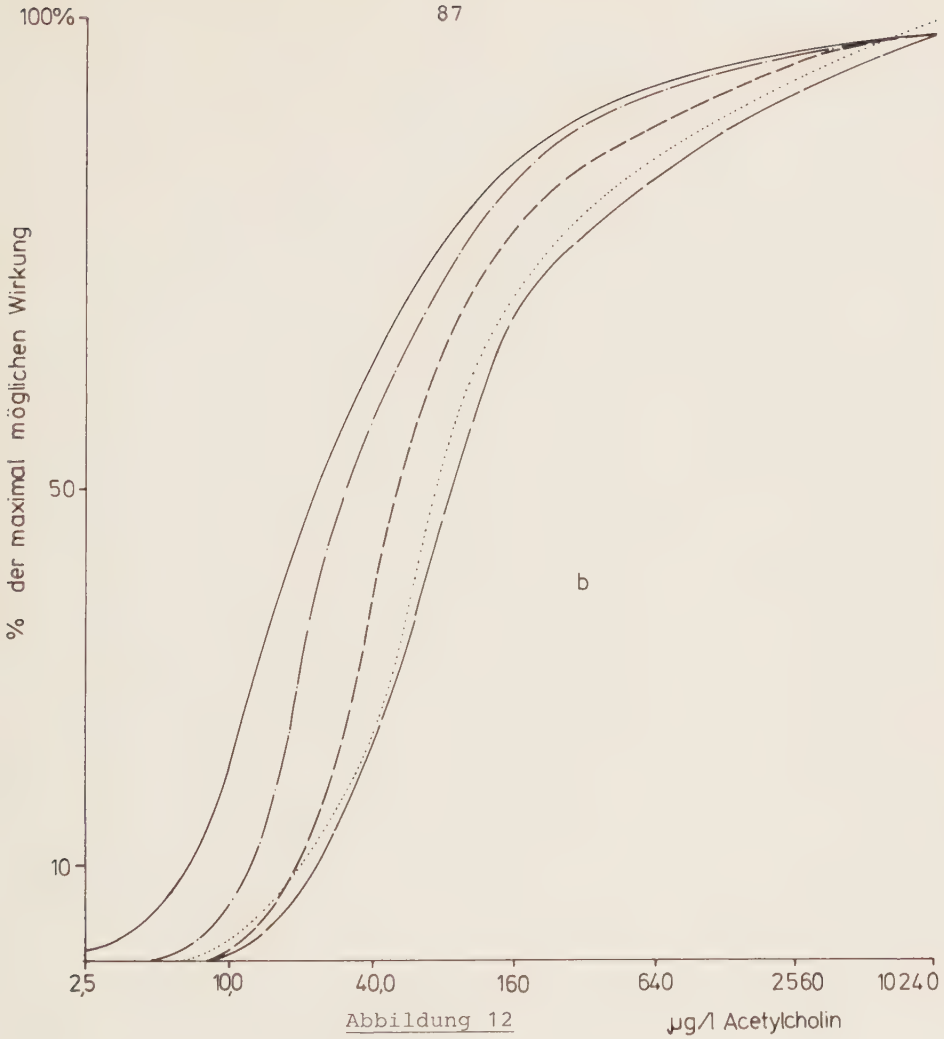


Abbildung 12

b) Versuche mit Carminativum

———— Dosis-Wirkungs-Kurve ohne Carminativum

– – – – – Dosis-Wirkungs-Kurve in Anwesenheit von 0,625 ml/l Carminativum

—·—·— erste Dosis-Wirkungs-Kurve nach Auswaschen von Carminativum

..... zweite Dosis-Wirkungs-Kurve nach Auswaschen

——— dritte Dosis-Wirkungs-Kurve nach Auswaschen

Alle fünf Dosis-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin wurden jeweils an ein und demselben Darmstück erstellt.

N = 6

Tabelle 11: Einfluß von Carminativum auf die $ED_{50}$ der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums. Fünf Dosis-Wirkungskurven wurden an ein und demselben Ileumstück erstellt.
Bei A war in der 2. Dosis-Wirkungskurve 0,625 ml/l Carminativum anwesend, bei den weiteren war es wieder ausgewaschen.
Bei B wurde keinerlei Behandlung durchgeführt

| | A | | B |
|---|---|---|---|
| $ED_{50}$ beim unbehandelten Darmstück (ohne Carminativum) | 30,5 ± 7,1 | $ED_{50}$ aus 1. Dosis-Wirkungskurve | 32,6 ± 9,9 |
| $ED_{50}$ in Anwesenheit von 0,625 ml/l Carminativum | 90,4 ± 25,6 | $ED_{50}$ aus 2. Dosis-Wirkungskurve | 35,2 ± 4,9 |
| $ED_{50}$ aus 1. Dosis-Wirkungskurve im Anschluß an die Behandlung (ohne Carminativum) | 56,2 ± 17,8 | $ED_{50}$ aus 3. Dosis-Wirkungskurve | 53,9 ± 6,0 |
| $ED_{50}$ aus 2. Dosis-Wirkungskurve im Anschluß an die Behandlung (ohne Carminativum) | 79,4 ± 21,9 | $ED_{50}$ aus 4. Dosis-Wirkungskurve | 89,6 ± 27,9 |
| $ED_{50}$ aus 3. Dosis-Wirkungskurve im Anschluß an die Behandlung (ohne Carminativum) | 91,0 ± 19,8 | $ED_{50}$ aus 5. Dosis-Wirkungskurve | 100 ± 30 |

Acetylcholinkonzentration in µg/l; Mittelwerte ± SEM; N = 6

der ersten und zweiten Dosis-Wirkungs-Kurve des Kontroll versuches (statistisch nicht signifikant). Zwischen der dritten Kurve des Kontrollversuches (im Hauptversuch die erste Dosis-Wirkungs-Kurve nach erfolgter Behandlung und der ersten ergibt sich ein $\triangle ED_{50}$ von 21,3 $\pm$ 11,4 µg/l Acetylcholin (nicht signifikant). Auch bei der vierten und fünften Kontroll-Dosis-Wirkungs-Kurve erhöht sich die $ED_{50}$ von Acetylcholin weiter. Bei der vierten Kurve ist sie um 57,0 $\pm$ 21,5 µg/l höher als bei der ersten (nicht signifikant) und bei der fünften um 67,7 $\pm$ 24,7 µg/l ($P \leq 0,05$; Wilcoxon-Test, zweiseitige Fragestellung). Das heißt bei diesem langen Verweilen im Organbad und den häufigen Waschvorgängen wird das Darmstück zunehmend unempfindlicher gegenüber Acetylcholin, so daß sich automatisch eine Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin ergibt.

Es ergibt sich somit kein Hinweis auf irreversible Wirkungen von 0,625 ml/l Carminativum, da die Differenzen zwischen den $ED_{50}$ der ersten, zweiten und dritten Kurve nach abgeschlossener Behandlung zur Kurve vor der Behandlung in ungefähr gleicher Größe sowohl bei Behandlung, als auch bei der Kontrolle (hier die dritte, vierte und fünfte Dosis-Wirkungs-Kontrolle gegenüber der ersten) auftreten.

Die Einzelextrakte wurden nicht mit dieser aufwendigen Methode auf ihre Reversibilität geprüft. Man kann aber wohl annehmen, daß ein einzelner Extrakt keine bleibenden Schädigungen hinterläßt, wenn das bei der Mischung, in der dieser Extrakt enthalten ist, nicht der Fall ist. Bei späteren Versuchen, bei denen die Pflanzenextrakte zu einer schon bestehenden, durch Carbachol ausgelösten Kontraktion zugegeben wurden, wurden weitere Untersuchungen zur Reversibilität angestellt.

## 3.4. Auslösung der Kontraktion durch Histamin

Bei den Pflanzenextrakten kann man annehmen, daß es sich nicht um spezifische Antagonisten handelt. Sie können deshalb auch bei anderen kontraktionsauslösenden Agentien eine Wirkung entfalten. Anschließend an die Untersuchungen mit Acetylcholin wurde, um einen weiteren Aspekt aufzuzeigen, Histamin als Agonist eingesetzt. Das Vorgehen erfolgte analog den Versuchen mit Acetylcholin, ebenfalls unter Berücksichtigung oben aufgeführter Fragestellung.

### 3.4.1. Einfluß von Extractum Aurantii

Bei den Versuchen mit Histamin ist Extractum Aurantii am stärksten wirksam, es führt bei allen drei untersuchten Extraktkonzentrationen zu einer deutlichen Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven von Histamin und einer Hemmung seiner maximal möglichen Wirkung. Die statistisch signifikanten Differenzen der $ED_{50}$ betragen bei 2,5; 5,0 und 10,0 ml/l: 166; 174 und 517 µg/l Histamin und es sind nur noch 93,1; 83,7 bzw. 51,8 % der maximal möglichen Histaminwirkung zu erreichen. Es sind in Abbildung 13 a bis c die Dosis-Wirkungs-Kurven von Histamin als Kontrolle und in Anwesenheit von 2,5; 5,0 und 10,0 ml/l Extractum Aurantii dargestellt. Die einzelnen Werte können Tabelle 12 entnommen werden.

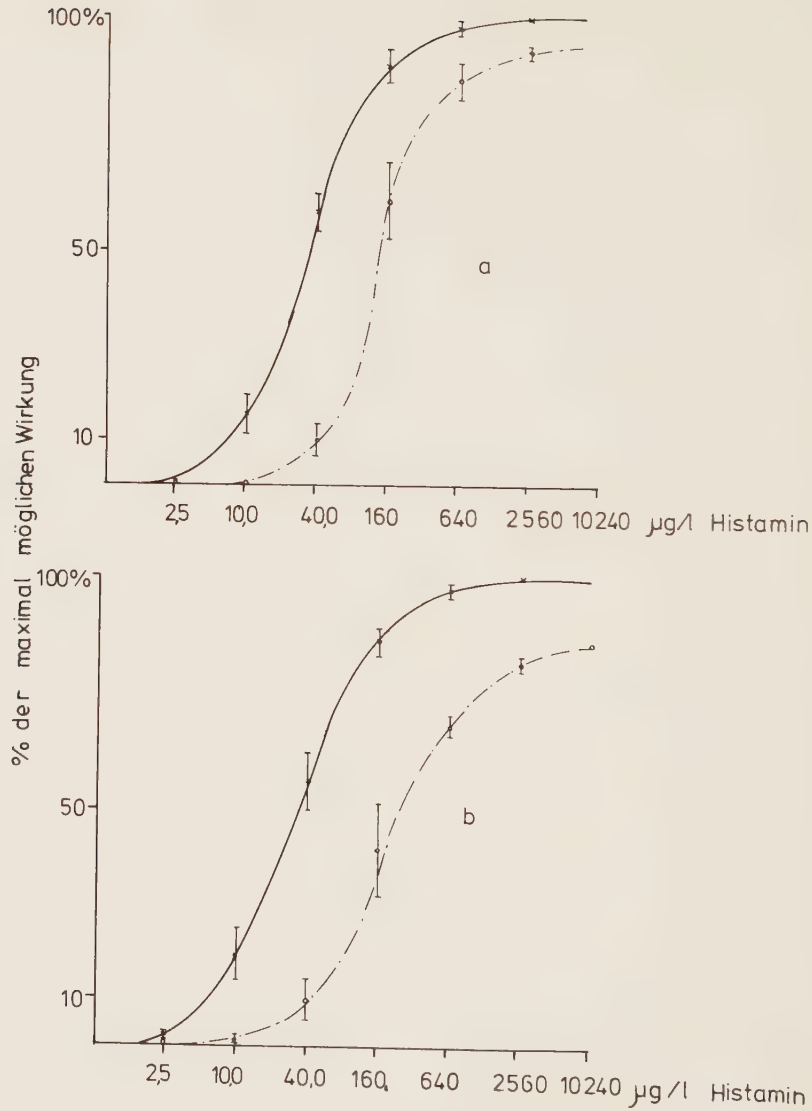


Abbildung 13

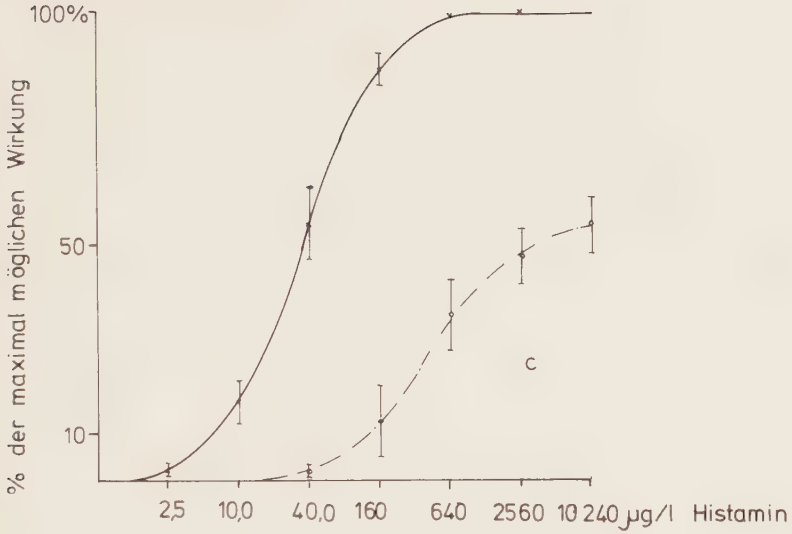


Abbildung 13: Einfluß von Extractum Aurantii auf die durch Histamin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 2,5 ml/l Extractum Aurantii

b) 5,0 ml/l Extractum Aurantii

c) 10,0 ml/l Extractum Aurantii

x————x ohne Zusatz

o - - -o in Anwesenheit von Extractum Aurantii

$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

Tabelle 12: Einfluß von Extractum Aurantii auf die $ED_{50}$ der durch Histamin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Extractum Aurantii | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Auran. | $ED_{50}$ mit Extr.Auran. | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 35,4 ± 5,5 | 151 ± 21,5 | $P \leq 0,025$ | 116 ± 21,4 | 93,1 ± 0,8 |
| 5,0 ml/l | 6 | 34,0 ± 5,6 | 208 ± 51,6 | $P \leq 0,025$ | 174 ± 48 | 83,7 ± 2,8 |
| 10,0 ml/l | 6 | 37,2 ± 8,1 | 554 ± 115 | $P \leq 0,025$ | 517 ± 110 | 51,8 ± 5,9 |

Histaminkonzentration in µg/l; Mittelwerte ± SEM; N = Anzahl der Versuche

*maximale Histaminwirkung (%) in Gegenwart von Extractum Aurantii

### 3.4.2. Einfluß von Extractum Carvi

In Abbildung 14 a und b und in Tabelle 13 ist die Darstellung der Werte für die Histaminversuche mit 2,5 und 10,0 ml/l Extractum Carvi zu finden. Auch bei einer Dosis-Wirkungs-Kurve von Histamin führt Extractum Carvi zu einer Erhöhung der Dosis des Agonisten. Es ergibt sich bei 2,5 ml/l ein $\Delta$ $ED_{50}$ von 28,2 µg/l Histamin ($P \leq 0,025$) und bei 10,0 ml/l eines von 41,5 µg/l ($P \leq 0,025$). Die maximale Histaminwirkung wird um 2,1 bzw. 7,3 % vermindert.

### 3.4.3. Einfluß von Extractum Chamomillae

Tabelle 14 nennt die Werte für die $ED_{50}$ und die in Anwesenheit von 2,5 und 10,0 ml/l Extractum Chamomillae maximal noch erreichbare Wirkung von Histamin. Die Zeichnung der Kurven erfolgte in Abbildung 15 a und b.

Extractum Chamomillae erhöht die $ED_{50}$ von Histamin bei 2,5 ml/l um 47 µg/l und bei 10,0 ml/l um 85 µg/l (bei beiden Werten $P \leq 0,025$). Die ohne Extractum Chamomillae maximal mögliche Histaminwirkung wird um 6,7 bzw. 23,5 % vermindert.

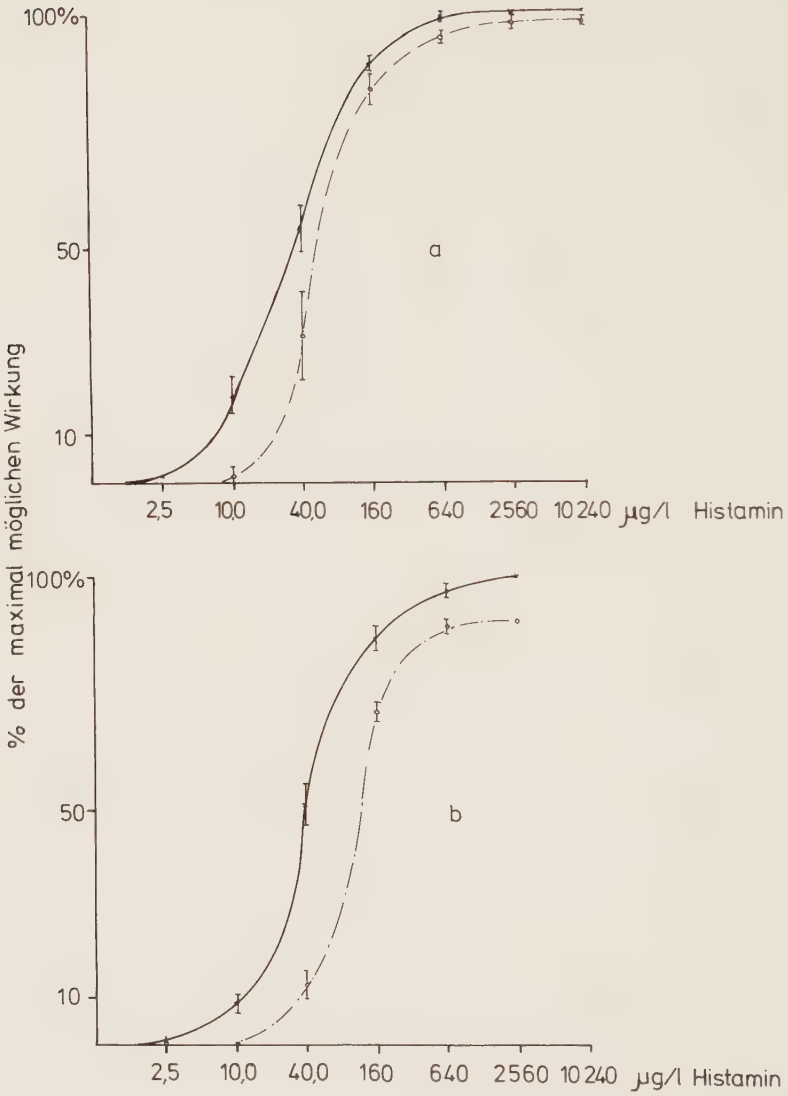


Abbildung 14: Einfluß von Extractum Carvi auf die durch Histamin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 2,5 ml/l Extractum Carvi
x———x ohne Zusatz
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

b) 10,0 ml/l Extractum Carvi
o - - -o in Anwesenheit von Extractum Carvi

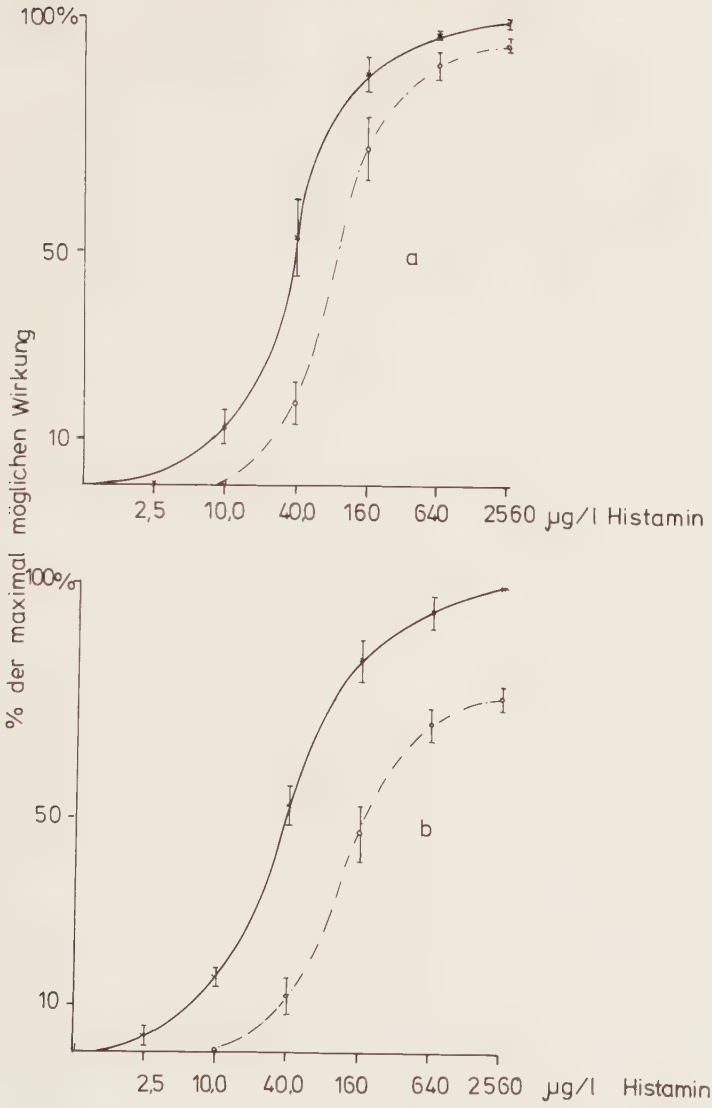


Abbildung 15: Einfluß von Extractum Chamomillae auf die durch Histamin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 2,5 ml/l Extractum Chamomillae
x———x ohne Zusatz
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

b) 10,0 ml/l Extractum Chamomillae
o - - -o in Anwesenheit von Extractum Chamomillae

Tabelle 13: Einfluß von Extractum Carvi auf die $ED_{50}$ der durch Histamin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Extractum Carvi | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Carvi | $ED_{50}$ mit Extr. Carvi | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung % * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 33,8 ± 6,2 | 62,0 ± 14,8 | $P \leq 0,025$ | 28,2 ± 9,5 | 97,9 ± 1,5 |
| 10,0 ml/l | 6 | 41,6 ± 3,7 | 83,1 ± 9,7 | $P \leq 0,025$ | 41,5 ± 11,7 | 92,7 ± 1,3 |

Tabelle 14: Einfluß von Extractum Chamomillae auf die $ED_{50}$ der durch Histamin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Extr. Chamomillae | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Chamom. | $ED_{50}$ mit Extr. Chamom. | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 44,5 ± 12,5 | 91,5 ± 19,5 | $P \leq 0,025$ | 47,0 ± 10,3 | 93,3 ± 1,4 |
| 10,0 ml/l | 6 | 43,3 ± 9,2 | 128 ± 26,3 | $P \leq 0,025$ | 85,0 ± 26,1 | 76,5 ± 2,2 |

Histaminkonzentration in µg/l; Mittelwerte ± SEM; N = Anzahl der Versuche

* maximale Histaminwirkung (%) in Gegenwart von Extractum Carvi bzw. Extractum Chamomillae

### 3.4.4. Einfluß von Extractum Foeniculi

Extractum Foeniculi führt bei Histamin zur geringsten Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von Histamin. Es ergeben sich nur $\triangle ED_{50}$ von 38,8 µg/l ($P \leq 0{,}025$) bei 2,5 ml/l Extrakt und von 17,5 µg/l bei 10,0 ml/l ($P \leq 0{,}025$). Aus ungeklärten Gründen ist hier die $\triangle ED_{50}$ bei 2,5 ml/l Extrakt höher als bei 10,0 ml/l. Auch die Hemmung der Maximalwirkung von Histamin ist mit 4,1 bzw. 6,8 % gering.

Die Ergebnisse der Einwirkungen von 2,5 und 10,0 ml/l Extractum Foeniculi zeigen die Abbildungen 16 a und b und die Tabelle 15.

### 3.4.5. Einfluß von Extractum Menthae

Der Einfluß von 2,5 und 10,0 ml/l Extractum Menthae auf die Dosis-Wirkungs-Kurve von Histamin ist aus Abbildung 17 a und b und aus Tabelle 16 ersichtlich. Auch der bei Acetylcholin gut wirksame Extractum Menthae führt hier bei Histamin nur zu einer geringeren Erhöhung der $ED_{50}$-Werte von Histamin. Bei 2,5 ml/l Extractum Menthae wird die $ED_{50}$ von Histamin signifikant um 19,5 und bei 10,0 ml/l Extrakt signifikant um 92 µg/l erhöht, wobei sich eine Hemmung der Maximalwirkung von 3,6 und 8,2 % ergibt.

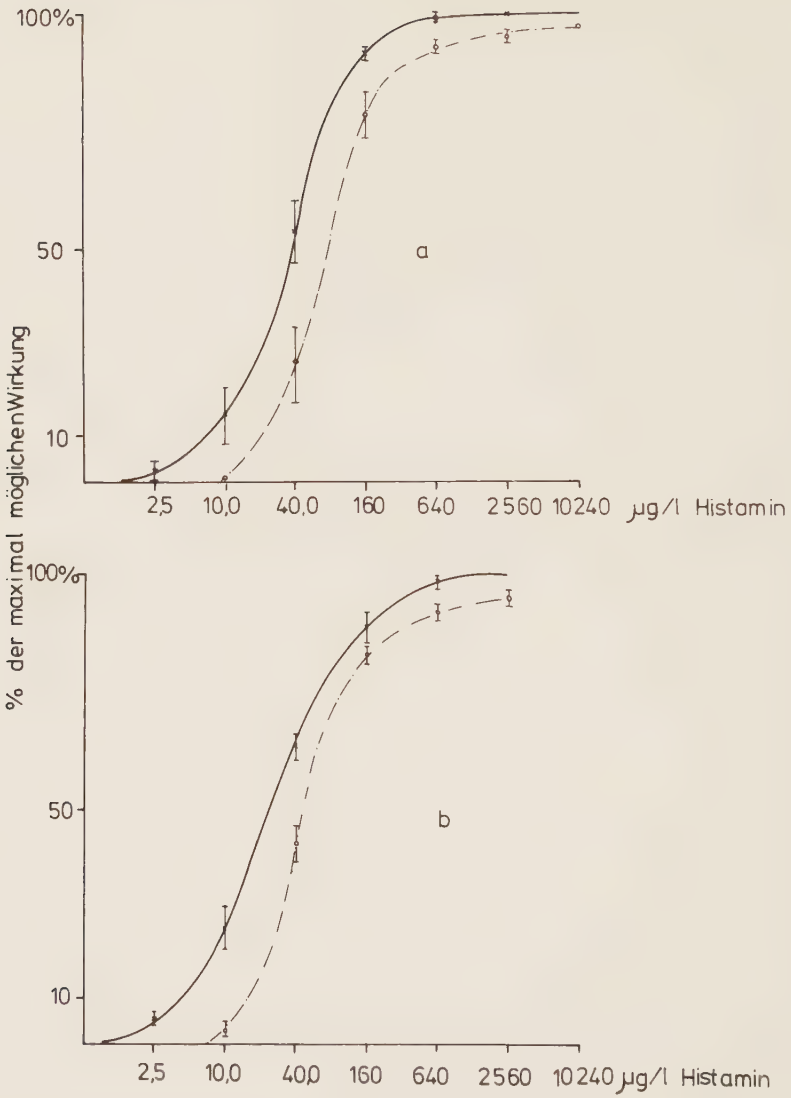


Abbildung 16: Einfluß von Extractum Foeniculi auf die durch Histamin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 2,5 ml/l Extractum Foeniculi
x———x ohne Zusatz
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

b) 10,0 ml/l Extractum Foeniculi
o - - -o in Anwesenheit von Extractum Foeniculi

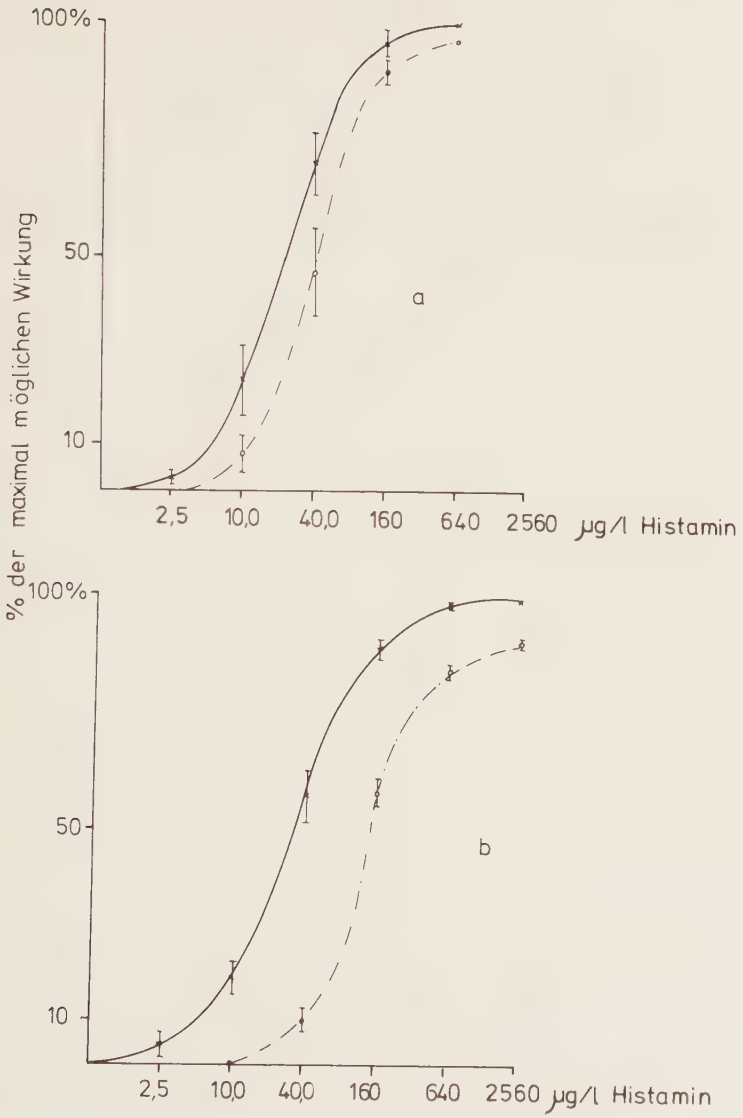


Abbildung 17: Einfluß von Extractum Menthae auf die durch Histamin ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

a) 2,5 ml/l Extractum Menthae
x———x ohne Zusatz
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

b) 10,0 ml/l Extractum Menthae
o - - -o in Anwesenheit von Extractum Menthae

Tabelle 15: Einfluß von Extractum Foeniculi auf die $ED_{50}$ der durch Histamin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

| Konzentration von Extr. Foeniculi | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Foenic. | $ED_{50}$ mit Extr. Foenic. | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 34,9 ± 5,2 | 73,8 ± 16,6 | $P \leq 0{,}025$ | 38,8 ± 13,2 | 95,9 ± 1,4 |
| 10,0 ml/l | 6 | 26,1 ± 2,5 | 43,6 ± 3,0 | $P \leq 0{,}025$ | 17,5 ± 1,6 | 93,2 ± 1,6 |

Tabelle 16: Einfluß von Extractum Menthae auf die $ED_{50}$ der durch Histamin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerscheinchenileums

| Konzentration von Extractum Menthae | N | $ED_{50}$ ohne Extr. Menthae | $ED_{50}$ mit Extr. Menthae | P | $\Delta$ $ED_{50}$ | maximale Wirkung %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,5 ml/l | 6 | 24,9 ± 5,3 | 44,5 ± 7,4 | $P \leq 0{,}025$ | 19,5 ± 5,4 | 96,4 ± 0,7 |
| 10,0 ml/l | 6 | 32,3 ± 5,3 | 124 ± 11,5 | $P < 0{,}025$ | 92,0 ± 11,0 | 91,8 ± 1,0 |

Histaminkonzentration in µg/l, Mittelwerte ± SEM; N = Anzahl der Versuche

* maximale Histaminwirkung (%) in Gegenwart von Extractum Foeniculi bzw. Extractum Menthae

### 3.4.6. Quantitativer Vergleich der Hemmwirkung der Extrakte auf die durch Histamin ausgelöste Kontraktion

Aus den Werten für die Varianzanalyse $\triangle \log ED_{50}$ ergibt sich für die Wirkung bei der durch Histamin ausgelösten Kontraktion folgende Reihenfolge:

| 2,5 ml/l Extrakt | 10,0 ml/l Extrakt |
|---|---|
| Extractum Aurantii | Extractum Aurantii |
| Extractum Chamomillae | Extractum Menthae |
| Extractum Foeniculi | Extractum Chamomillae |
| Extractum Menthae | Extractum Carvi |
| Extractum Carvi | Extractum Foeniculi |

Auch hier wieder verschiedene Reihenfolge bei den verschiedenen Konzentrationen.

Bei 2,5 ml/l unterscheidet sich Extractum Aurantii signifikant ($P \leq 0,05$) von Extractum Foeniculi, Menthae und Carvi, nicht dagegen von Extractum Chamomilae. Weiterhin besteht kein signifkanter Unterschied zwischen Extractum Chamomillae, Foeniculi, Menthae und Carvi.

Auch bei 10,0 ml/l ist Extractum Aurantii am stärksten wirksam, es unterscheidet sich mit $P \leq 0,05$ von allen übrigen bei der Histaminkontraktion untersuchten Extrak-

ten. Der Unterschied zwischen Extractum Menthae, Chamomillae, Carvi und Foeniculi ist mit der Anzahl der vorhandenen Stichproben statistisch nicht abzusichern.

Übersicht über die Wirkungsintensität der Einzelextrakte bei alkoholischer Extraktion:

Um einen besseren Anhalt für die Wirkungsstärke der alkoholischen Extrakte zu erhalten, sind die $\triangle ED_{50}$ und die maximal möglichen Wirkungen in Anwesenheit der Pflanzenextrakte für alle Extrakte und beide Konzentrationen sowohl für Acetylcholin als auch für Histamin in Tabelle 17 zusammengefaßt. Wie daraus zu ersehen ist, ist es schwer eine absolute Reihenfolge in der Wirksamkeit der Extrakte aufzustellen, da sich diese bei den verschiedenen Agonisten und den verschiedenen Konzentrationen ändert.

Tabelle 17: Übersicht über die $\Delta ED_{50}$ und die maximal mögliche Wirkung von Acetylcholin und Histamin in Anwesenheit zweier Konzentrationen verschiedener Pflanzenextrakte, Carminativum und Carminativum Hetterich

| | $\Delta ED_{50}$ | | | | maximale Wirkung in % in Gegenwart der Extrakte | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Acetylcholin | | Histamin | | Acetylcholin | | Histamin | |
| | Extraktkonzentration | | Extraktkonzentration | | Extraktkonzentration | | Extraktkonzentration | |
| | 2,5 ml/l | 10,0 ml/l | 2,5 ml/l | 10,0 ml/l | 2,5 ml/l | 10,0 ml/l | 2,5 ml/l | 10,0 ml/l |
| Extr. Aurantii | 44,5 ± 11,3 | 92,1 ± 16,6 | 116 ± 21 | 517 ± 110 | 85,6 ± 3,0 | 62,3 ± 6,2 | 93,1 ± 0,8 | 51,9 ± 5,9 |
| Extr. Carvi | 23,1 ± 8,0 | 62,3 ± 26,1 | 28,2 ± 9,5 | 41,5 ± 11,7 | 100 ± 2,1 | 91,6 ± 0,9 | 97,9 ± 1,5 | 92,7 ± 1,3 |
| Extr. Chamomillae | 46,5 ± 16,2 | 93,7 ± 26,0 | 47,0 ± 10,3 | 85,0 ± 26,1 | 89,0 ± 2,4 | 70,4 ± 3,0 | 93,3 ± 1,4 | 76,5 ± 2,2 |
| Extr. Foeniculi | 16,2 ± 5,0 | 46,6 ± 16,7 | 38,8 ± 13,2 | 17,5 ± 1,6 | 98,2 ± 2,0 | 91,3 ± 4,0 | 95,9 ± 1,4 | 93,2 ± 1,6 |
| Extr. Menthae | 24,6 ± 4,5 | 172 ± 74 | 19,5 ± 5,4 | 92,0 ± 11 | 99,0 ± 1,6 | 80,4 ± 4,4 | 96,4 ± 0,7 | 91,8 ± 1,0 |
| Carminativum | 17,2 ± 3,5 | 100 ± 25 | - | - | 94,2 ± 1,6 | 61,7 ± 2,2 | - | - |
| Carminativum Hetterich | 15,4 ± 2,7 | 152 ± 64 | - | - | 94,0 ± 1,4 | 59,1 ± 2,8 | - | - |

Acetylcholin- und Histaminkonzentrationen in µg/l; Mittelwerte ± SEM

## 3.5. Auslösung der Kontraktion durch Carbachol

Um die Frage zu beantworten, ob die untersuchten Pflanzenextrakte nicht nur die Entstehung einer Kontraktion bei vorheriger Zugabe verhindern, sondern auch eine schon bestehende Kontraktion lösen können, wurden die Extrakte in einer weiteren Versuchsserie erst nach Auslösung und Stabilisierung der Kontraktion durch einen Agonisten dem Organbad zugegeben.

Die Untersuchungen wurden bei durch Carbachol ausgelösten Kontraktionen durchgeführt, da Carbamoylcholin enzymatisch in vitro nur geringfügig abgebaut wird. Außerdem wurde die Vorlast, die auf dem Ileumstück ruht, von 1,75 auf 1,33 g (bei Loch 9) verringert, damit das Darmstück nicht zu stark gespannt wird und somit ein eventueller Rückgang durch mechanische Beanspruchung möglichst ausgeschlossen ist. Die geringe Vorlast führte aber, besonders in Anwesenheit von Carbachol und weniger im entspannten Zustand des Darmes, zu einer stärkeren Spontanaktivität.

### 3.5.1. Spontane Kontraktionsverminderung eines unbehandelten Darmstücks

Die Versuche mit Acetylcholin zeigten mit der Zeit

einen gewissen, nicht durch Arzneimittelzugabe ausgelösten selbständigen Rückgang der Kontraktion. Da bei der Nachbehandlung die Kontraktion länger aufrecht erhalten wurde, mußten hier, um den spontanen Rückgang quantifizieren zu können, Versuche gemacht werden, bei denen die Reaktion auf eine bestimmte Carbacholdosis ohne jegliche Behandlung beobachtet wurde. Trotz des hier auszuschließenden enzymatischen Abbaus, verringerte sich die Kontraktion des isolierten Ileumstücks während der Einwirkungszeit von Carbachol. Diese spontane Kontraktionsverminderung wird in Tabelle 18 (letzte Zeile) und in Abbildung 18 dargestellt.

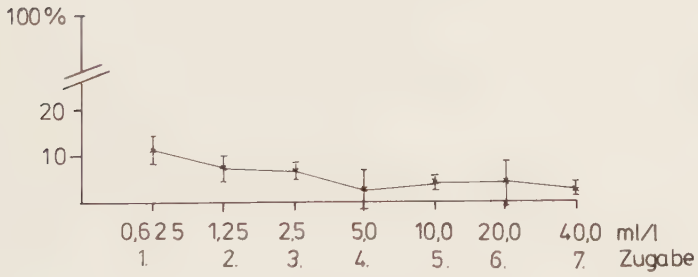


Abbildung 18: Spontane Kontraktionsverminderung einer etwa 75 % igen Carbacholkontraktion des isolierten Meerschweinchenileums (ohne Zugabe eines Antagonisten).
Abszisse: 1., 2., 3... Zugabe: An diesem Punkt wurden im Hauptversuch die genannten Extraktkonzentrationen zugegeben.
Ordinate: spontane Kontraktionsverminderung in Prozent der Ausgangskontraktion.
$\bar{x}$ + SEM: N = 10

Auf der Abszisse in Abbildung 18 sind Konzentrationen in ml/l abgetragen, da hier aber kein Pflanzenextrakt zugegeben wurde, entsprechen sie dem Zeitpunkt, zu dem im Hauptversuch mit Extraktbehandlung die jeweilige Konzentration des Pflanzenextraktes zugegeben wurde. Die Ordinate zeigt den spontanen Rückgang in Prozent der mit einer bestimmten Carbacholdosis ausgelösten Kontraktion.

Am Anfang des Versuchs ist der spontane Kontraktionsrückgang der durch Carbachol ausgelösten Kontraktion stärker als gegen Ende. Auf Grund der durchgeführten Stichproben ergibt sich kein signifikanter Unterschied zu den zwei niedrigsten untersuchten Extraktkonzentrationen. Mit längerem Verweilen im Organbad wird die nicht durch Pflanzenextrake ausgelöste Verminderung der Kontraktion geringer. Sie verringert sich von 11,5 % zum Zeitpunkt der ersten Extraktzugabe bis auf 2,8 % zu dem Zeitpunkt, wenn nach ca. 45 min. das siebte Mal ein Extrakt (40,0 ml/l) zugegeben wird (Abbildung 18). Vielleicht erfolgte zu Beginn des Versuches durch die auf dem Darmstück ruhende Vorlast eine gewisse Dehnung des Darmes, die sich später stabilisierte.

### 3.5.2. Hemmung einer bereits bestehenden Kontraktion durch nachträglichen Zusatz von Pflanzenextrakten, Carminativum und Ethanol

Die Zugabe der Pflanzenextrakte, ihrer Mischung in Carminativum und von Ethanol führte über die, auch bei der durch Carbachol ausgelösten Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums vorhandene, spontane Kontraktionsverminderung hinaus zu einer dosisabhängigen Hemmung, die bis zu einem vollständigen Kontraktionsrückgang führte. In Tabelle 18 sind die einzelnen Hemmwerte, die sich bei den verschiedenen Konzentrationen der Pflanzenextrakte ergeben einzeln aufgeführt. Um diese Werte verringert sich eine durch Carbachol ausgelöste Kontraktion bei Zugabe der genannten Extraktkonzentrationen. Die Kontraktion wird ausgelöst durch die Carbacholdosis, die in der kumulativen Dosis-Wirkungs-Kurve des untersuchten Darmstücks etwa 75 % der maximal möglichen Carbacholkontraktion erzeugt.

Trägt man die Hemmwerte, die sich bei den einzelnen Konzentrationen ergeben, in ein halblogarithmisches Koordinatensystem ein, ergeben sich Dosis-Wirkungs-Kurven der Pflanzenextrakte für die Hemmung der Carbacholkontraktion (Abbildungen 19 bis 26). In dem Koordinatensystem sind auf der logarithmisch geteilten Abszisse die Extraktkonzentrationen aufgetragen und auf der

Ordinate die Hemmung der durch Carbachol ausgelösten Kontraktion in Prozent. Bei allen Extrakten, bei Ethanol und Carminativum resultiert aus dieser Dosis-Wirkungs-Beziehung annähernd ein Sigmoid.

Die $ED_{50}$ der Extrakte wurden graphisch aus den Dosis-Wirkungs-Kurven eines jeden Versuches bestimmt. In Tabelle 19 sind die daraus errechneten Mittelwerte der $ED_{50}$ und die Streuung der Mittelwerte aufgeführt.

Infolge der ohne Behandlung sich ergebenden spontanen Verminderung der durch Carbachol ausgelösten Kontraktion, unterscheiden sich die Hemmwerte der Extrakte, die sich bei Zusatz von 0,625 und 1,25 ml/l Extrakt ergeben noch nicht signifikant vom Nullwert. Signifikanz auf dem 5 %-Niveau (t-Test) ergibt sich erst ab einer Extraktkonzentration von 2,5 ml/l, bei Ethanol aber erst ab 10,0 ml/l (vergleiche Tabelle 18). Bei der Vorbehandlung mit den Extrakten ist der Effekt der Pflanzenextrakte auch bei den niedrigen Konzentrationen statistisch signifikant.

Da Ethanol, wie schon früher festgestellt, nicht indifferent ist, wurde auch diesmal eine Versuchsserie mit reinem Lösungsmittel durchgeführt.

Der Ethanolgehalt der Extrakte beträgt 30 Vol%, so wurde eine 30 %ige (ml/ml) Ethanollösung hergestellt und diese wie die Extrakte zur vorher ausgelösten Carbacholkontraktion zugegeben.

Das ergibt dann im Bad folgende Ethanol-Endkonzentrationen:

0,625 ml/l Ethanollösung 30 % = 0,1875 ml/l Ethanol 99 %
1,25 ml/l Ethanollösung 30 % = 0,375 ml/l Ethanol 99 %
2,5 ml/l Ethanollösung 30 % = 0,75 ml/l Ethanol 99 %
5,0 ml/l Ethanollösung 30 % = 1,5 ml/l Ethanol 99 %
10,0 ml/l Ethanollösung 30 % = 3,0 ml/l Ethanol 99 %
etc.

Aus den Einzelwerten berechnet ergibt sich daraus eine $ED_{50}$ für die nachträgliche Hemmwirkung der 30 %igen Ethanollösung von 29,2 ml/l (= 8,8 $\pm$ 0,8 ml/l Ethanol 99 %).

Gegenüber den Extrakten liegt die Dosis-Wirkungs-Kurve der 30 %igen Ethanollösung deutlich weiter rechts, bei höheren Ethanolkonzentrationen, als die der Extrakte, die einen vergleichbaren Ethanolgehalt aufweisen (Abbildung 19). Die $ED_{50}$ der Ethanollösung 30 % ist dreimal so hoch wie die des Durchschnitts der Extrakte. (Tabelle 19)

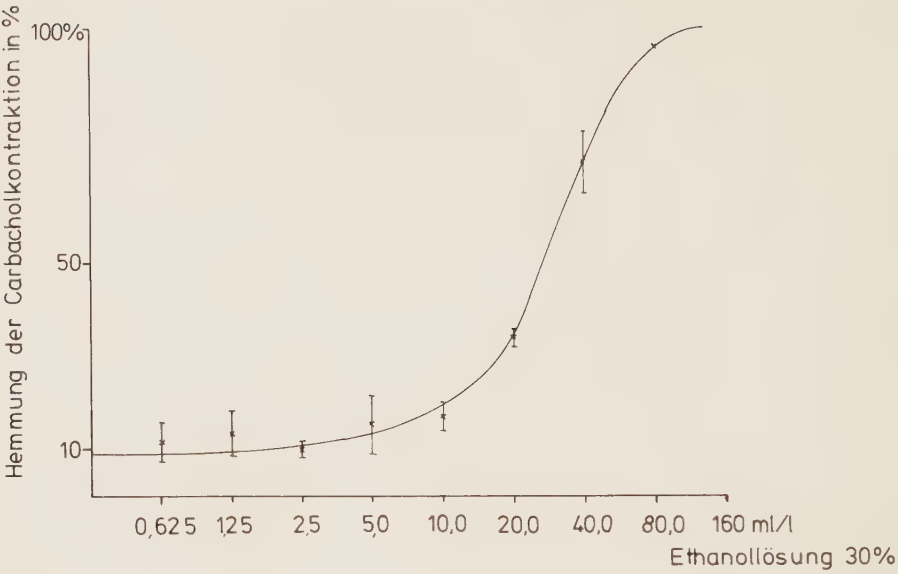


Abbildung 19: Dosis-Wirkungs-Kurve von einer 30 %igen Ethanollösung für die nachträgliche Hemmung der durch Carbachol ausgelösten Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums

$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

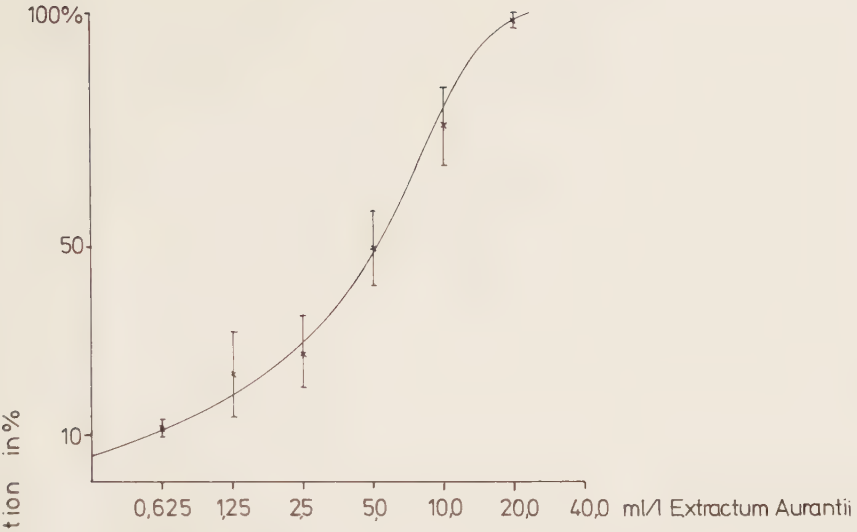


Abbildung 20: Einfluß von Extractum Aurantii auf eine durch Carbachol (ca. 75 % der maximal wirksamen Konzentration) hervorgerufene Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums. Gabe des Extraktes bei bereits vorhandener Kontraktion.
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

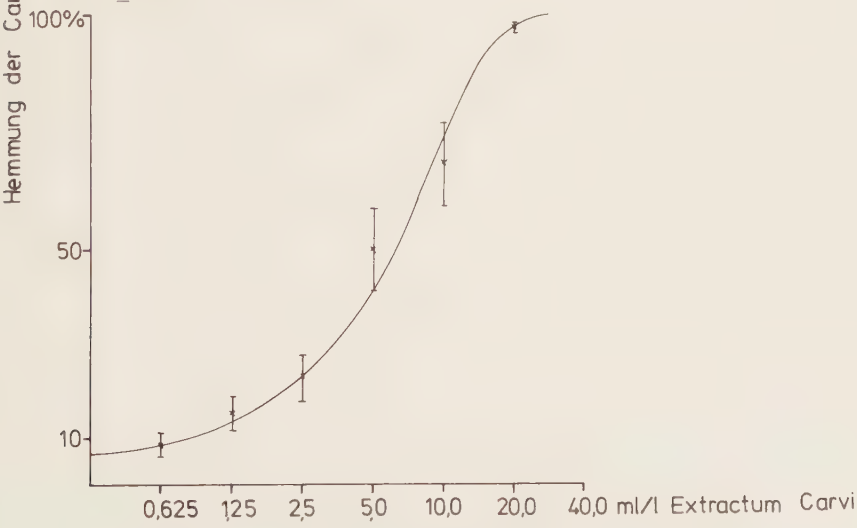


Abbildung 21: Einfluß von Extractum Carvi auf eine durch Carbachol (ca. 75 % der maximal wirksamen Konzentration) hervorgerufene Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums. Gabe des Extraktes bei bereits vorhandener Kontraktion.
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

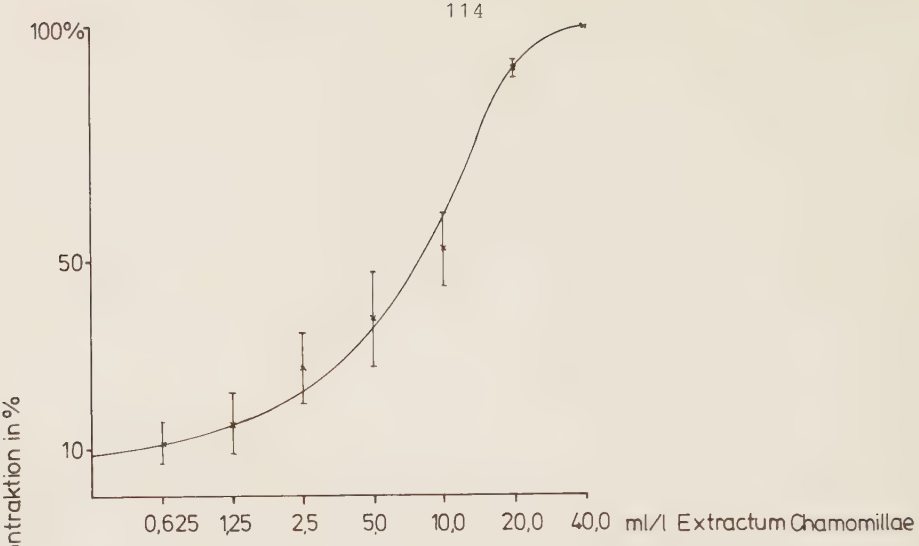


Abbildung 22: Einfluß von Extractum Chamomillae auf eine durch Carbachol (ca. 75 % der maximal wirksamen Konzentration) hervorgerufene Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums. Gabe des Extraktes bei bereits vorhandener Kontraktion.
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

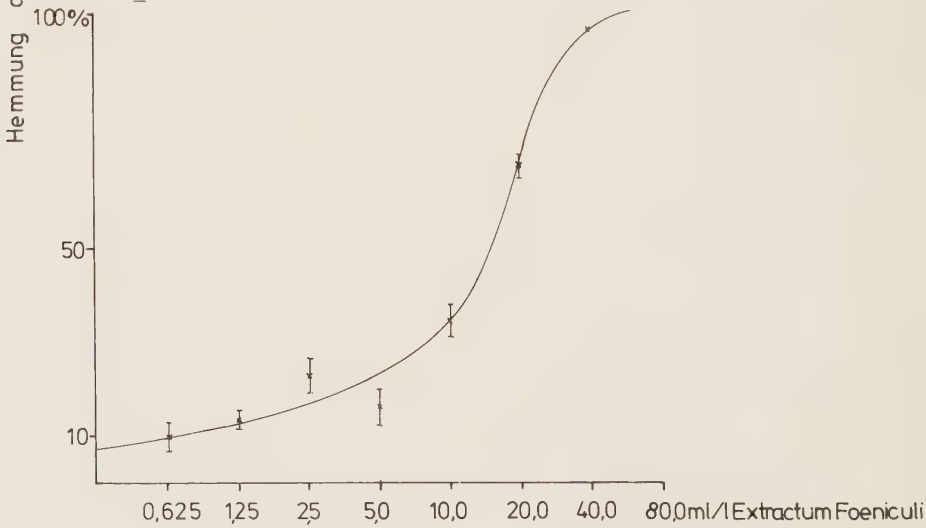


Abbildung 23: Einfluß von Extractum Foeniculi auf eine durch Carbachol (ca. 75 % der maximal wirksamen Konzentration) hervorgerufene Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums. Gabe des Extraktes bei bereits vorhandener Kontraktion.
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

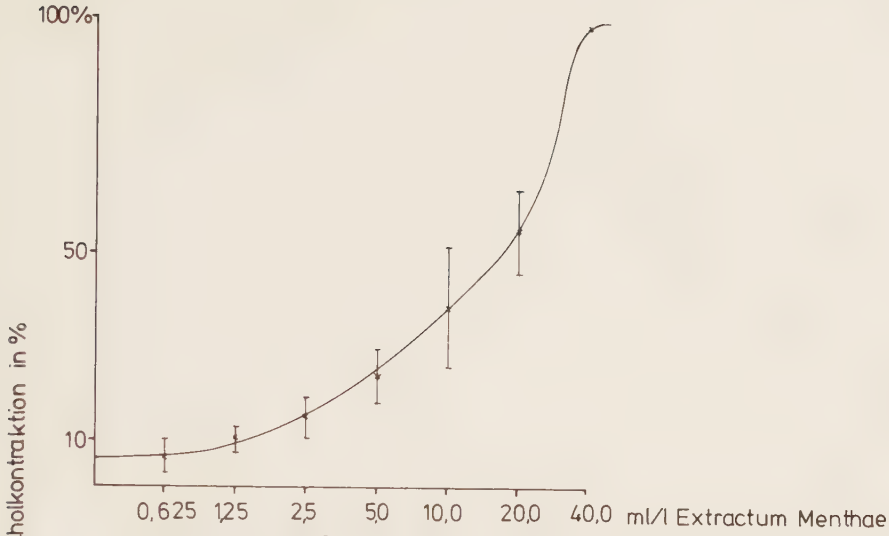


Abbildung 24: Einfluß von Extractum Menthae auf eine durch Carbachol (ca. 75 % der maximal wirksamen Konzentration) hervorgerufene Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums. Gabe des Extraktes bei bereits vorhandener Kontraktion.
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

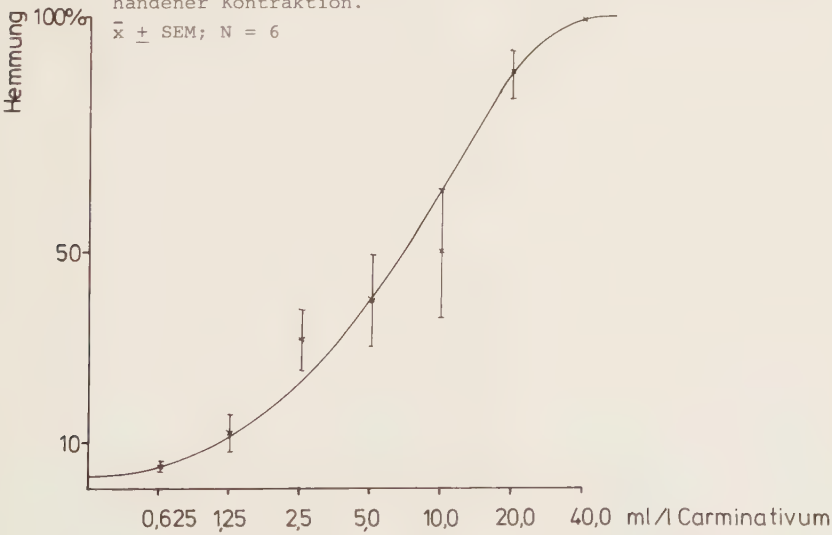


Abbildung 25: Einfluß von Carminativum auf eine durch Carbachol (ca. 75 % der maximal wirksamen Konzentration) hervorgerufene Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums. Gabe von Carminativum bei bereits vorhandener Kontraktion.
$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

Tabelle 18: Hemmung der Carbacholkontraktion in Prozent durch nachträgliche Zugabe verschiedener Pflanzenextrakte, Ethanol und Kontrollwerte

| Extrakt \ Extraktkonzentration | 0,625 ml/l | 1,25 ml/l | 2,5 ml/l | 5,0 ml/l | 10,0 ml/l | 20,0 ml/l | 40,0 ml/l | 80,0 ml/l |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Extractum Aurantii | 11,5 ± 2,1 | 23,4 ± 9,2 | 27,2 ± 7,3 | 50,0 ± 8,2 | 76,6 ± 8,6 | 98,6 ± 1,1 | | |
| Extractum Carvi | 8,5 ± 2,6 | 15,1 ± 3,8 | 22,8 ± 5,3 | 49,9 ± 9,2 | 68,3 ± 9,0 | 97,7 ± 1,2 | | |
| Extractum Chamomillae | 11,5 ± 4,6 | 15,1 ± 7,1 | 27,2 ± 7,7 | 37,9 ± 10,2 | 52,5 ± 7,8 | 91,1 ± 2,2 | 99,4 ± 0,4 | |
| Extractum Foeniculi | 10,1 ± 3,3 | 13,4 ± 2,1 | 22,8 ± 4,0 | 16,8 ± 4,1 | 34,1 ± 3,6 | 67,4 ± 2,5 | 96,0 ± 1,1 | |
| Extractum Menthae | 6,6 ± 3,5 | 10,8 ± 3,3 | 15,6 ± 4,5 | 24,1 ± 5,7 | 38,7 ± 12,7 | 65,7 ± 9,2 | 98,9 ± 0,6 | |
| Carminativum | 4,5 ± 1,3 | 11,9 ± 4,3 | 21,8 ± 6,6 | 39,9 ± 10,3 | 50,3 ± 14,4 | 88,8 ± 5,0 | 100 | |
| Ethanollösung 30 % | 11,9 ± 4,4 | 13,6 ± 5,2 | 11,1 ± 1,9 | 15,5 ± 6,2 | 17,1 ± 3,3 | 33,9 ± 2,3 | 70,9 ± 6,6 | 95,5 ± 0,9 |
| keine Extraktzugaben (Kontrolle) | 11,5 ± 3,1 | 7,6 ± 2,9 | 7,2 ± 2,2 | 3,3 ± 4,6 | 4,4 ± 1,6 | 4,8 ± 5,1 | 2,8 ± 1,4 | |

Mittelwerte ± SEM; N = 6 (bei Kontrolle N = 10)

Tabelle 19: $ED_{50}$ der Pflanzenextrakte von Carminativum und Ethanollösung 30 % bei nachträglicher Zugabe zu einer durch Carbachol ausgelösten Kontraktion (ca. 75 % der maximal möglichen Carbacholwirkung) des isolierten Meerschweinchenileums

| Pflanzenextrakt | $ED_{50}$ (ml/l) |
|---|---|
| Extractum Aurantii | 5,7 ± 1,2 |
| Extractum Carvi | 6,5 ± 0,9 |
| Extractum Chamomillae | 8,4 ± 1,5 |
| Extractum Foeniculi | 13,9 ± 1,2 |
| Extractum Menthae | 13,6 ± 2,5 |
| Carminativum | 9,6 ± 1,8 |
| Ethanollösung 30 % | 29,2 ± 2,8 |

Mittelwerte ± SEM; N = 6

Extractum Aurantii, dessen Dosis-Wirkungs-Kurve in Abbildung 20 dargestellt ist, hat eine $ED_{50}$ von 5,7 ml/l. Diese $ED_{50}$ ist in der Varianzanalyse signifikant kleiner als die von Ethanol ($P \leq 0,05$). Gegenüber Extractum Menthae, Carminativum, Extractum Chamomillae und Extractum Carvi besteht kein signifikanter Unterschied.

Die Dosis-Wirkungs-Kurve von Extractum Carvi zeigt Abbildung 21. Es hat für die Hemmung der Carbacholkontraktion eine $ED_{50}$ von 6,5 ml/l und unterscheidet sich signifikant nur von Ethanol ($P \leq 0,01$).

Auch Extractum Chamomillae mit seiner $ED_{50}$ von 8,4 ml/l unterscheidet sich auf dem 1 %-Niveau von Ethanol, nicht jedoch von den übrigen Extrakten. Die Dosis-Wirkungs-Kurve von Extractum Chamomillae ist aus Abbildung 22 zu ersehen.

Carminativum, das alle untersuchten Pflanzenextrakte enthält, hat eine $ED_{50}$ von 9,6 ml/l und unterscheidet sich damit mit $P \leq 0,05$ von der 30 %igen Ethanollösung, nicht dagegen von den übrigen Extrakten. Abbildung 25 zeigt die Dosis-Wirkungs-Kurve von Carminativum.

Trotz der großen Differenz zwischen Extractum Foeniculi, mit einer $ED_{50}$ von 13,9 ml/l bzw. Extractum Menthae, dessen $ED_{50}$ 13,6 ml/l beträgt, und Ethanol mit einer $ED_{50}$ von 29,2 ml/l, läßt sich der Unterschied zu Ethanol infolge der starken Streuung der Versuche mit der vorliegenden Anzahl Stichproben statistisch nicht absichern. Zu den anderen Extrakten, außer, wie oben aufgeführt, zwischen Extractum Aurantii und Extractum Foeniculi besteht ebenfalls

kein signifikanter Unterschied. Die Dosis-Wirkungs-Kurven von Extractum Foeniculi und Extractum Menthae sind in Abbildung 23 bzw. 24 dargestellt.

Die Logarithmen der $ED_{50}$-Werte, die zur Varianzanalyse herangezogen wurden, ergeben nachstehende Reihenfolge:

Extractum Aurantii
Extractum Carvi
Extractum Chamomillae
Carminativum
Extractum Menthae
Extractum Foeniculi
Ethanollösung 30 %

Hier hat Extractum Aurantii wie bei der Verschiebung der $ED_{50}$ von Histamin die stärkste Wirkung. Im übrigen ist die Reihenfolge verschieden von der, die sich bei Acetylcholin und Histamin mit den verschiedenen Extraktkonzentrationen ergeben.

Auch für die $ED_{50}$ der Extrakte ergibt sich eine additive Wirkung der Pflanzenextrakte. Bildet man den Mittelwert aller 5 untersuchten Einzelextrakte, unter Berücksichtigung der verschiedenen hohen Anteile am Carminativum, ergibt sich eine $ED_{50}$ von 9,4 ml/l. Für Carminativum wurde bei der Hemmung der durch Carbachol ausgelösten Kontraktion eine $ED_{50}$ von 9,6 ml/l

ermittelt.

3.5.3. Prüfung auf Reversibilität der Hemmwirkung

Eine weitere Prüfung auf Reversibilität der Wirkung der Einzelextrakte, von Carminativum sowie Ethanol wurde anhand der kumulativen Dosis-Wirkungs-Kurven von Carbachol durchgeführt.

Es wurde jeweils eine kumulative Dosis-Wirkungs-Kurve, ohne Auswaschen des Agonisten vor Zugabe der nächsten Konzentration des Agonisten, vor und nach der Behandlung mit den Extrakten erstellt (Abbildung 26 a - g).

Es ergibt sich bei allen sieben Dosis-Wirkungs-Kurven des Carbachols eher eine Tendenz zu größerer Empfindlichkeit der Darmstücke nachdem die Behandlung mit den Pflanzenextrakten abgeschlossen war. Die Dosis-Wirkungs-Kurvennach abgeschlossener Behandlung liegen etwas weiter links, bei niedrigeren Carbacholdosen, als diejenigen, die zu Anfang des Versuches gemacht wurden. Bei der Kontrolle, bei der kein Extrakt zugesetzt wurde, ist die Dosis-Wirkungs-Kurve nach den sieben Kontraktions- und Waschvorgängen bis zu 50 % Wirkung praktisch identisch mit der zu Anfang gemachten. Danach ergibt sich eine stärkere kontraktile Wirkung des Carbachols, die sich bis zu 130 %

der Maximalwirkung der ersten Kurve steigert, das Ileumstück reagiert empfindlicher auf Carbachol. Auch die meisten anderen Kurven nach Behandlung übersteigen die 100 %-Marke, die sich durch die maximale Kontraktion durch Carbachol bei der ersten Dosis-Wirkungs-Kurve ergibt. Auf diese maximale Kontraktion sind alle anderen, auch die, die sich im Anschluß an die Extraktbehandlung ergeben, bezogen.

Keine der Dosis-Wirkungs-Kurven, die nach Behandlung erstellt wurden, liegt rechts von denen, die vor Behandlung gemacht wurden. Die geringen Unterschiede die sich ergeben sind statistisch nicht signifikant. Damit deuten auch diese Versuche daraufhin, daß die Pflanzenextrakte und Carminativum in den untersuchten Konzentrationen das Ileum nicht irreversibel beeinflußen.

Im Gegensatz zum Verhalten der Ileumstücke bei den Reversibilitätsuntersuchungen mit Acetylcholin ergibt sich bei der Kontrollkurve (ohne Extraktzusatz) mit Carbachol im Verlauf von ca. 90 min keine abnehmende Empfindlichkeit gegenüber Carbachol, die Reaktion auf den Agonisten wird eher etwas stärker. Die für Carbachol gefundene $ED_{50}$ liegt berechnet aus 7 Mittelwertskurven) bei 41,7 $\pm$ 3,6 µg/l Carbachol vor Behandlung und bei 33,7 $\pm$ 1,7 µg/l nach der Behandlung.

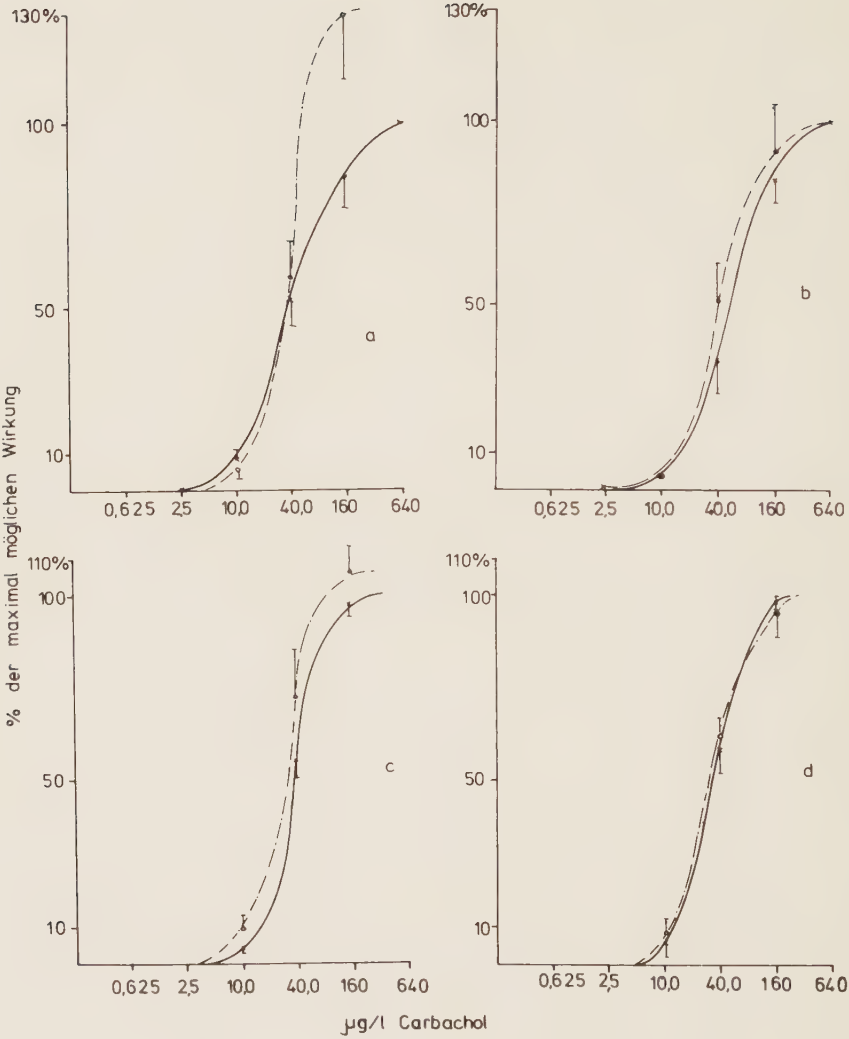


Abbildung 26

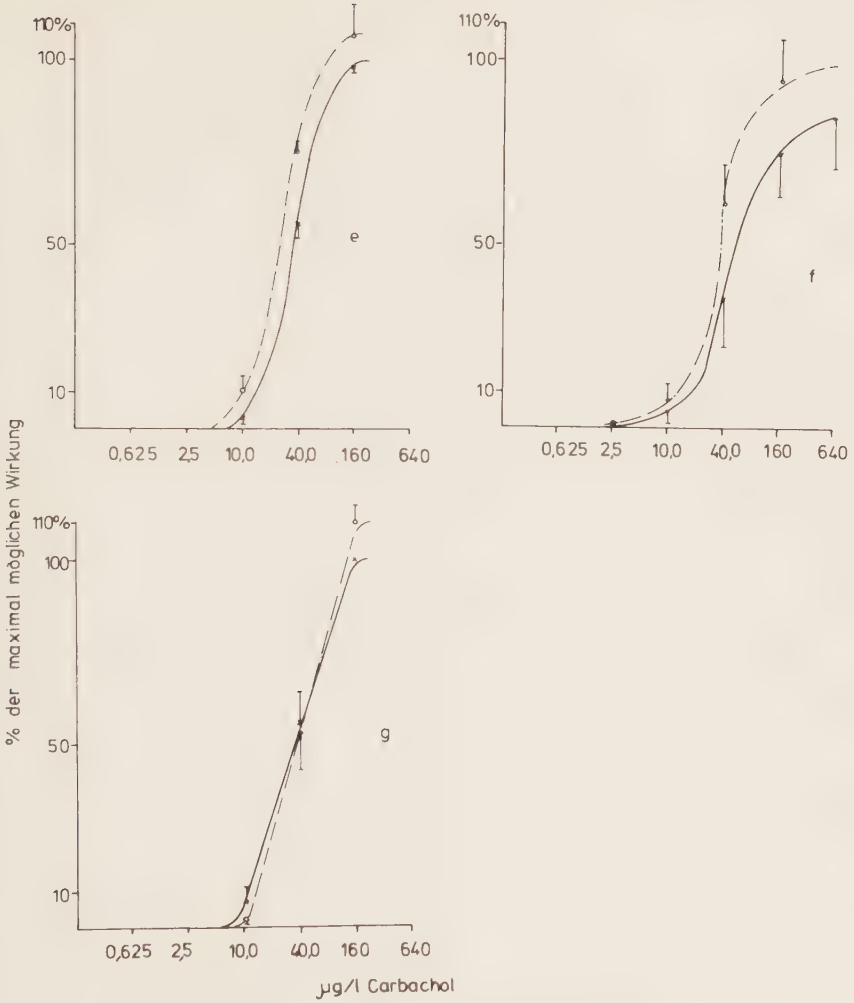


Abbildung 26: Kumulative Dosis-Wirkungs-Kurven für die kontraktile Wirkung von Carbachol am isolierten Meerschweinchenileum vor (x———x) und nach (o- - - o) Behandlung mit den Pflanzenextrakten.

a) Kontrolle (ohne Zusatz eines Pflanzenextraktes)
b) vor und nach Behandlung mit Extractum Aurantii
c) vor und nach Behandlung mit Extractum Carvi
d) vor und nach Behandlung mit Extractum Chamomillae
e) vor und nach Behandlung mit Extractum Foeniculi
f) vor und nach Behandlung mit Extractum Menthae
g) vor und nach Behandlung mit Carminativum

$\bar{x} \pm$ SEM; N = 6

Bei der Zugabe eines Pflanzenextraktes zu einer schon bestehenden Kontraktion betrug die Zeit, während der sich in der Badflüssigkeit ein Pflanzenextrakt befand und auf den Darm einwirkte im Durchschnitt 16 min. Das entspricht der Zeit, die zur Erstellung einer Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin in Anwesenheit eines Hemmstoffes (Vorbehandlung) benötigt wurde. Dabei war der Kontakt mit ein und derselben Konzentration über die ganze Zeit gegeben, während hier bei der Nachbehandlung immer wieder mit reiner Krebs-Henseleit-Lösung gespült wurde und die Steigerung der Extraktkonzentration schrittweise erfolgte. Allerdings wirkten hier auch höhere Konzentrationen ein, die bei den Untersuchungen zur Reversibilität nicht zur Anwendung kamen.

# 4. D I S K U S S I O N

## 4.1. Pharmakotherapie des spastischen Schmerzes und Wirkungsmechanismus chemisch definierter Spasmolytica

Bei der Therapie des spastischen Schmerzes haben die sogenannten Spasmolytica ihren festen Platz. Sie wurden letztlich aus zwei Grundkörpern entwickelt, den Molekularstrukturen des Atropin und des Papaverin.

### 4.1.1. Neurotrop wirkende Spasmolytica

Der Anwendung von Parasympatholytica, z.B. Atropin als Spasmolytica liegt die Tatsache zugrunde, daß der Tonus einiger glattmuskeliger Organe, z.B. des Darmes, der Harnblase und der Bronchien, überwiegend unter parasympathischem Einfluß steht.

Die Parasympatholytica hemmen in therapeutischen Dosen die Muscarinwirkung des Acetylcholins, indem sie dieses kompetitiv von seinem Rezeptor an der postsynaptischen Membran verdrängen, d.h. sie haben zum Acetylcholinrezeptor "affinity", besitzen aber keine "intrinsic activity".

Die Therapie mit Parasympatholytica wird erst dadurch

möglich, daß die Nicotinwirkung des Acetylcholins an den Ganglien und an der quergestreiften Muskulatur erst durch hohe und dann toxische Dosen von z.B. Atropin gehemmt werden.

Durch die Herabsetzung des Parasympathicustonus haben die Parasympatholytica ein breites Wirkungsspektrum, das sowohl erwünscht wie unerwünscht sein kann. Die Wirkung des Atropins im Gastro-Intestinal-Trakt ist charakterisiert durch eine Hemmung der Sekretion und der Motilität. Die glatte Muskulatur der Gallenwege, des Magen-Darm-Kanals, der Harnblase und der Bronchien erschlafft, und zwar vor allem dann, wenn sie spastisch kontrahiert ist (MUTSCHLER 1975).

Ihre Anwendung ist dadurch beschränkt, daß es bisher noch nicht gelungen ist, Parasympatholytica mit spezifisch spasmolytischen Wirkungen zu finden. Bis jetzt besitzen alle synthetischen Parasympatholytica das gesamte Spektrum antimuskarinischer Wirkungen und unterscheiden sich vom Atropin nur durch ihre Wirkungsdauer und ihre Resorption nach oraler Gabe (FORTH 1977).

Die meisten synthetischen Parasympatholytica haben ein quartäres Stickstoffatom und damit den Vorteil, daß sie die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden

können und keine zentralen Wirkungen und Nebenwirkungen besitzen (z. B. Butylscopolamin), werden dadurch aber auch schlechter aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert.

### 4.1.2. Muskulotrop wirkende Spasmolytica

Als der klassische Typ für unspezifisch wirkende Spasmolytica gilt das Papaverin. Es besitzt in vitro eine myogen erschlaffende Wirkung auf sämtliche glatte Muskeln, unabhängig von Innervation, Ruhetonus oder sonstigen Faktoren. So ist es gegenüber Carbachol- und Bariumchlorid-Spasmen am isolierten Meerschweinchenileum gleich wirksam, während Atropin bei mit $BaCl_2$ erzeugten Spasmen nur schwach wirksam ist (SCHAETTE 1972). Der Anwendung als Spasmolyticum sind in der Praxis durch die starke Wirkung auf Herz und Kreislauf aber Grenzen gesetzt (MUTSCHLER 1975).

Die unspezifisch erschlaffende Wirkung des Papaverins beruht vermutlich auf seiner Eigenschaft als Hemmstoff der cAMP-Phosphodiesterase, die es bis zu einem gewissen Grade mit Xanthinderivaten wie Theophyllin, Theobromin und Coffein teilt (PÖCH 1976).

## 4.2. Spasmolytische Wirkung der Pflanzenextrakte

Während die Wirkungen und Wirkungsmechanismen der Parasympatholytica recht gut untersucht sind, fehlen zum großen Teil exakte pharmakologische Untersuchungen über viele häufig angewandte Arzneipflanzen, denen eine spasmolytische Aktivität zugeschrieben wird. Ihre Anwendung beruht weithin auf Überlieferung und Emipirie.

Exakte quantitative Angaben über die Wirkungen der hier untersuchten Arzneidrogen Pomeranzenschalen, Kümmel, Kamillenblüten, Fenchel und Pfefferminzblätter waren kaum zu finden. Auch nicht bei der ansonsten gut untersuchten Kamille. Z.B. erwähnt HOLUB et. al. (1955) für natives Bisabolol nur eine "spasmolytische Wirkung vom Papaverintyp", gibt aber keinerlei Zahlen an. BREINLICH (1968) gibt für den Spiroäther in Kamillenblüten eine $ED_{95}$ von 120 µg/l für den Acetylcholinspasmus und eine $ED_{95}$ von 270 µg/l für die Histaminkontraktion an. Kamillenblüten enthalten nach GLASL (1976) 358 mg/% Droge mit Dichlormethan extrahierbaren Spiroäther, von dem etwa 60 % mit 48 %igem Ethanol (ml/ml) extrahierbar sind. Das zeigt wieder den Einfluß des Lösungsmittels auf die Wirksamkeit des Extraktes.

Die meisten neueren Arbeiten beschäftigen sich mehr mit der Chemie der Inhaltsstoffe, weiterhin mit einer Standardisierung auf bestimmte Inhaltsstoffe, die aber manchmal, wie sich meist erst später herausstellt, nicht immer das Hauptwirkungsprinzip einer Arzneipflanze sind. Mit diesen Inhaltsstoffen werden dann manchmal auch pharmakologische Untersuchungen gemacht und die Wirkungen beschrieben. Viel häufiger als isolierte Inhaltsstoffe werden aber die vollständigen Pflanzenteile oder deren Gesamtextrakte angewandt.

### 4.2.1. Spasmolytische Wirkung von Extractum Aurantii, Extractum Carvi, Extractum Chamomillae, Extractum Foeniculi und Extractum Menthae

Bei vorliegenden Untersuchungen ergab sich, daß die ethanolischen Extrakte aller untersuchten Pflanzen eine spasmolytische Wirkung aufweisen. Da alle sowohl qualitativ als auch quantitativ ähnliche Effekte zeigen, werden sie zusammen diskutiert.

Bei der Vorbehandlung mit den Extrakten kommt es zu einer Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin und Histamin, die Pflanzenextrakte und die Carminativa setzen die kontraktile Wirkung der Agonisten am Meerschweinchenileum dosisabhängig herab.

Zusätzlich zu einer Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven kommt es zu einer dosisabhängigen Verminderung der bei den Kontrollen erreichten maximalen Kontraktion durch die Agonisten.

Die Wirkung ist nicht spezifisch, die Pflanzenextrakte beeinflußen sowohl die durch Acetylcholin bzw. Charbachol ausgelöste Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums, als auch die durch Histamin ausgelöste.

Weiterhin ergibt sich eine Kombination aus nichtkompetitivem und kompetitivem Antagonismus, was einerseits zu einer Erhöhung der $ED_{50}$ der Agonisten und andererseits zu einer Verminderung ihrer maximalen Wirkung führt. (ARIËNS 1965). Bei einem kompetitven Antagonismus sollte die maximale Wirkung wieder erreicht werden, während bei einem rein nichtkompetitiven bei gleichbleibender $ED_{50}$ das Maximum der Kurve geringer wird (VAN ROSSUM 1963). Es scheint bei den niedrigeren Konzentrationen der kompetitive Effekt etwas stärker in Erscheinung zu treten, während die nichtkompetitive Komponente erst bei den höheren Konzentrationen stärker ausgeprägt ist. Durch diese Mischung eines kompetitiven und eines nichtkompetitiven Effektes, ergibt sich mit der alleinigen Angabe einer $ED_{50}$ kein exaktes Bild der Wirkungsstärke der

Pflanzenextrakte. Die Hemmwirkung auf die Agonisten erscheint niedriger, als sie tatsächlich ist, da durch den nichtkompetitiven Anteil die absolute Wirkung des Agonisten vermindert wird. Auf Grund fehlender Kenntnisse über die Einzelkomponenten können jedoch keine Angaben über die Art der zur Hemmung von Acetylcholin und Histamin führenden Stoffe gemacht werden.

### 4.2.2. Quantitativer Vergleich der Hemmwirkung der Extrakte mit der des Atropins

Im Vergleich zu Atropin, das als Standardsubstanz für einen kompetitiven Antagonisten des Acetylcholins gilt, haben die Pflanzenextrakte in einer Konzentration von 10,0 ml/l ungefähr den gleichen Einfluß auf die $ED_{50}$ von Acetylcholin wie 1,0 µg/l Atropin.

1,0 µg/l Atropin, eine Dosierung, die bei Atropin enthaltenen Mischungen therapeutisch verwendet wird, führt zu einem $\Delta ED_{50}$ von 92,5 µg/l Acetylcholin. Die niedrigste hier verwendete Atropindosis von 0,1 µg/l Atropin hat ein $\Delta ED_{50}$ von 9,3 µg/l Acetylcholin. Diese Werte liegen in Bereichen, die von den Pflanzenextrakten ebenfalls erreicht werden, allerdings bei höheren Konzentrationen. So haben 5,0 und 10,0 ml/l Extractum Aurantii, 10,0 ml/l Extractum Chamomillae und 10,0 ml/l Carminativum die Wirkungs-

stärke von 1,0 µg/l Atropin. Noch stärker wirksam als diese Atropinkonzentration sind 10,0 ml/l Carminativum Hetterich und Extractum Menthae (164 bzw. 186 % der Atropinwirkung). Die Hälfte der Wirkung von 1,0 µg/l Atropin haben 5,0 ml/l Carminativum und Carminativum Hetterich und 2,5 ml/l Extractum Chamomillae und Aurantii. Am schwächsten wirksam, auch im Vergleich mit Atropin, ist die 30 %ige Ethanollösung, die bei 5,0 ml/l 9 % und bei 10,0 ml/l 12 % der Atropinwirkung besitzt (Tabelle 10).

Alle Pflanzenextrakte übertreffen in einer Konzentration von 2,5 ml/l die $\Delta ED_{50}$ von 0,1 µg/l Atropin. Carminativum zeigt in der niedrigsten untersuchten Konzentration von 0,625 ml/l ein ebenso großes $\Delta ED_{50}$ wie 0,1 µg/l Atropin (9,6 gegenüber 9,3 µg/l Acetylcholin).

4.2.3. Ethanol

An der antagonistischen Wirkung der Extrakte ist zu einem gewissen Teil auch der als Extraktionsmittel verwendete Alkohol beteiligt, da auch dieser, wie Abbildung 4 zeigt, die Dosis-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin nach rechts verschiebt. Die maximale Wirkung des Acetylcholins wird durch die untersuchten Konzentrationen nicht beeinflußt. Ethanol ist

bei 10,0 ml/l Extractum Foeniculi mit 27 % an der $\Delta$ $ED_{50}$ beteiligt und bei 10,0 ml/l Extractum Menthae zu 7 %. Dazwischen liegen die Werte für die anderen Extrakte und die Carminativa. 5,0 ml/l Ethanollösung 30 % zeigt 1/6 der Wirkung von Carminativum und Carminativum Hetterich und 1/10 der Wirkung von der gleichen Konzentration Extractum Aurantii. 10,0 ml/l der 30 %igen Ethanollösung hat 1/4 (bei Extractum Foeniculi), 1/6 (bei Extractum Carvi) bis 1/13 (bei Carminativum Hetterich) und 1/15 (bei Extractum Menthae) der Wirkung der Extrakte. Im Durchschnitt aller Extrakte ist es zu 1/9 an deren Wirkung beteiligt.

## 4.3. Reversibilität

Um eine irreversible Schädigung des Ileums auszuschließen, wurden die Versuche durchgeführt, bei denen nach Behandlung mit 0,625 ml/l Carminativum weitere Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin an ein und demselben Darmstück erstellt wurden. Dabei stellt sich heraus, daß ein unbehandeltes Darmstück bei wiederholter Verwendung an Ansprechbarkeit gegenüber Acetylcholin einbüßt, die Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin verschiebt sich im Lauf der Zeit immer mehr nach rechts. Nach dreimaligem Erstellen einer Dosis-Wirkungs-Kurve nach erfolgter Behandlung mit Carminativum betrug die $\Delta$ $ED_{50}$ zur Kontrollkurve 60 µg/l

Acetylcholin. Vergleicht man diese Erhöhung mit der $\Delta ED_{50}$ in der entsprechenden Kontrollkurve, die 67 µg/l beträgt, besteht kein Unterschied. (Abbildung 12)

Diese Versuche sprechen daher dafür, daß Carminativum in einer Konzentration von 0,625 ml/l wieder auswaschbar, und damit die kontraktionshemmende Wirkung reversibel ist.

Weitere Hinweise auf die Reversibilität ergeben sich, bei der Nachbehandlung einer durch Carbachol ausgelösten Kontraktion mit den Extrakten, durch den Vergleich der Dosis-Wirkungs-Kurven von Carbachol vor und nach der Behandlung. Die Dosis-Wirkungs-Kurven, die nach den Behandlungen mit den verschiedenen Konzentrationen an Pflanzenextrakten erstellt wurden, liegen nicht weiter rechts, als diejenigen vor der Behandlung. Auch die Kontrolle zeigt hier keinen Empfindlichkeitsverlust gegenüber Carbachol. (Siehe Abbildung 26)

## 4.4. Nachbehandlung mit den Pflanzenextrakten

In Umkehr der bisherigen Prozedur wurde in weiteren Versuchen zuerst eine Kontraktion ausgelöst (durch Carbachol und dann erst die Extrakte zugesetzt. Es sollte damit ausgeschlossen werden, daß Acetylcholin auf Grund einer Schädigung des Darmstückes durch die zugesetzten Extrakte in seiner kontraktionsauslösenden Wirkung behin-

dert wird. Zudem entspricht es eher den physiologischen Gegebenheiten, einen schon bestehenden Spasmus zu behandeln, als seine Entstehung zu verhindern. Es wurde dabei jeweils soviel Carbachol verwendet, daß am Darm 75 % seiner möglichen Kontraktion erzielt wurden. Erst nach ausgelöster Kontraktion erfolgte dann die Zugabe der Extrakte.

Die Extrakte, die Carminativa und auch Ethanol führen dabei zu einer dosisabhängigen Verminderung der vorher durch Carbachol ausgelösten Darmkontraktion. Damit konnte gezeigt werden, daß die Pflanzenextrakte nicht nur die Entstehung einer Kontraktion verhindern können, sondern auch einen Einfluß auf eine schon bestehende Kontraktion auszuüben vermögen. Die Hemmung der 75 %igen Carbacholkontraktion ist bei Extractum Aurantii mit einer $ED_{50}$ von 5,7 ml/l am stärksten und bei Extractum Foeniculi und Menthae mit 13,6 und 13,9 ml/l am schwächsten. Bei der 30 %igen Ethanollösung ergibt sich eine $ED_{50}$ von 29,2 ml/l, was dem dreifachen des Durchschnitts der Extrakte entspricht.

## 4.5. Additive Wirkung der Pflanzenextrakte

Für die Mischung der Einzelwerte in Carminativum ergibt sich keine stärkere Wirkung als für die Summe der Wirkungen der Einzelextrakte.

Addiert man die $\triangle$ $ED_{50}$ der fünf Pflanzenextrakte (5 mal 2,5 ml/l = 12,5 ml/l) bei den Versuchen mit Acetylcholin, so kommt man auf eine hypothetische $\triangle ED_{50}$ von 155 µg/l Acetylcholin für 12,5 ml/l Extraktmischung (unter der Voraussetzung, daß alle Extrakte in gleicher Menge, 20 %, in der Mischung enthalten sind, in Carminativum schwankt die Zusammensetzung von 16,7 % bei Extractum Chamomillae bis 23,3 % bei Extractum Aurantii). Unter Berücksichtigung dieser verschieden hohen Anteile ergibt sich ein additives $\triangle ED_{50}$ von 154 µg/l Acetylcholin für 12,5 ml/l Mischung. Die Konzentration von 10,0 ml/l Carminativum führt bei Acetylcholin zu einem $\triangle ED_{50}$ von 100 µg/l, was auf 12,5 ml/l extrapoliert 125 µg/l entspricht. Demnach wäre die Mischung um 23 % schwächer wirksam als sich aus der Addition der Einzelextrakte ergibt.

## 4.6. Vergleich der Wirkungsstärke der Extrakte aus Pericarpium Aurantii, Fructus Carvi, Flores Chamomillae, Fructus Foeniculi und Folia Menthae

Wie schon früher erwähnt, ist es schwer, eine absolute Reihenfolge der Wirkungsstärke der Extrakte aufzustellen, da sich diese bei den verschiedenen Agonisten und bei den verschiedenen Extraktkonzentrationen ändert. Es zeichnet sich lediglich ab, daß Extractum

Aurantii mit am stärksten spasmolytisch wirksam ist und Extractum Foeniculi am schwächsten.

## 4.7. Lokale Wirkung der Pflanzenextrakte

Um deutliche Wirkungen der Extrakte zu erhalten, mußten in vitro relativ hohe Dosierungen angewandt werden, die am Menschen in der Praxis nicht verwendet werden. Bei einer Dosierung von z.B. 30 Tropfen Carminativum Hetterich für einen Erwachsenen von 70 kg ergibt sich eine Konzentration von 21,5 µg/kg, das ist 1/30 der Konzentration 0,625 ml/l. Bei 5 Tropfen für einen Säugling von 4 kg ergeben sich 63 µg/l, was 1/10 der niedrigsten untersuchten Konzentration entspricht.

Es besteht die Möglichkeit, daß die Konzentration im Magen-Darm-Trakt, zumindest während der Resorption, höher ist, als auf das Gesamtgewicht bezogen, was eine gewisse lokale Wirkung ergeben würde. Für eine lokale Wirkung spricht auch die Aussage von GREFF (in FORTH 1977) über eine lokalanästhetische Wirkung der Spasmolytica Adiphenin und Camylofin: "diese mag an dem therapeutischen Effekt beteiligt sein". Allerdings kann nicht gesagt werden, ob im Colon noch eine Resorption erfolgt, wo sich Blähungen und Spasmen hauptsächlich finden. Eine direkte Wirkung

ist möglicherweise auf obere Darmabschnitte beschränkt Weiter berichtet REIMANN* in einem Brief der Albert-Roussel Pharma GmbH über deutliche krampflösende Eigenschaften von Ethacridinlactat (Metifex(R)) bei Darmspasmen, wie sie bei Enteritiden fast immer auftreten. Da Ethacridinlactat nicht resorbiert wird, ist eine systemische Spasmolyse auszuschließen. Er verweist auf "zahlreiche und übereinstimmende klinische Berichte, die bereits nach Gabe der ersten therapeutischen Dosen über sehr eindrucksvolle motilitätsregulierende Effekte berichten. Über den Wirkmechanismus können wir keine Aussage machen."

Unsere Untersuchungen sagen jedoch nichts über die Wirkungsintensität und Wirkungsdauer beim Patienten aus, sie beschreiben lediglich einen dosisabhängigen Effekt, der durch unmittelbare Zugabe zum isolierten Organ erzielt wird.

---

*persönliche Mitteilungen 1978

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

5.1. In der Volksheilkunde werden Präparationen aus Pericarpium Aurantii, Fructus Carvi, Flores Chamomillae, Fructus Foeniculi und Folia Menthae als Spasmolytica eingesetzt. Diese Verwendung beruht vorwiegend auf Empirie, weniger dagegen auf pharmakologischen Wirkungsanalysen.

5.2. In vorliegender Arbeit sollte am isolierten Meerschweinchenileum die spasmolytische Wirkung von ethanolischen Extrakten aus Pericarpium Aurantii, Fructus Carvi, Flores Chamomillae, Fructus Foeniculi und Folia Menthae untersucht werden. Dabei kam es insbesondere auf den quantitativen Aspekt der spamolytischen Wirkung an.

5.3. Folgende Ergebnisse wurden erhalten:
Alle genannten Pflanzenextrakte (1:3,5 in 30 %igem Ethanol) führten dosisabhängig zu einer Hemmung der durch Acetylcholin, Carbachol und Histamin hervorgerufenen Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums.

5.4. Dabei war ein zweifacher Effekt dieser Pflanzenextrakte zu beobachten. Sie führten erstens zu einer Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven für

Acetylcholin und Histamin und zweitens kam es darüberhinaus, insbesondere bei höheren Konzentrationen, nicht mehr zu der maximal möglichen Wirkung von Acetylcholin und Histamin.

5.5. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß die von uns untersuchten Pflanzenextrakte in unspezifischer Weise spasmolytisch wirken, weil sie sowohl die durch Acetylcholin bzw. durch Histamin bedingte Kontraktion hemmen, als auch unter ihrem Einfluß es nicht mehr zur maximal möglichen Kontraktion durch Histamin und Acetylcholin kommt. Darüberhinaus scheinen sie aber, insbesondere bei niedrigen Konzentrationen einen gewissen kompetitiven Effekt zu haben, da man hier eine Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin und Hinstamin findet.

5.6. Kontrolluntersuchungen mit Ethanol zeigten, daß dieses zu ca. 9 % an der Wirkung der alkoholischen Pflanzenextrakte beteiligt ist.

5.7. Im Bereich von 0,625 bis 10,0 ml/l Badflüssigkeit entspricht die Wirkung der Pflanzenextrakte etwa der von 0,1 bis 1,0 µg/l Atropin.

5.8. Beim Vergleich der Wirkungsstärke der Extrakte untereinander ist Extractum Aurantii am stärksten wirksam. Die anderen Extrakte unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Jedoch ist der am stärksten wirksame Extrakt auch nur 2 bis 5 mal stärker als die übrigen Extrakte.

5.9. Verglichen mit der Mischung der Extrakte (Carminativum) verhalten sich die Wirkungen der Einzelextrakte additiv.

5.10. Die spasmolytische Wirkung der Pflanzenextrakte ist reversibel.

5.11. Sie hemmen die kontraktile Wirkung von Parasympathomimetica, gleichgültig, ob sie vor oder nach deren Zugabe der Badflüssigkeit zugesetzt werden.

5.12. Wenn auch vom quantitativen Standpunkt die spasmolytische Wirkung der untersuchten Pflanzenextrakte wesentlich geringer ist als die des Atropins, so liefern die hier vorgelegten Ergebnisse eine wissenschaftliche Begründung für die Anwendung dieser Pflanzen als leichte krampflösende Mittel.

# L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ARIËNS, E.J.; van ROSSUM, J.M.; SIMONIS, A.M.: A Theoretical Basis of Molecular Pharmacology. Part II: Interactions of one or two Compounds with two interdependent Receptor Systems
Arzneim. Forsch. 6, 611-621 (1956)

BERGER, F.: Drogenkunde Band 3, 1953, Verlag Wilhelm Maudrich, Wien

BÖHME, H.; HARTKE, K.: Deutsches Arzneibuch 7. Ausgabe 1968 Kommentar
2. berichtigter Nachdruck 1971, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart

BREINLICH, J.; SCHARNAGEL, K.: Pharmakologische Eigenschaften des EN-IN-Dicycloäthers aus Matricaria Chamomilla
Arzneim. Forsch. 18, 429-431 (1968)

CHOPRA, I.C.; JAMWAL, K.S.: KHAJURIA, B.N.: Pharmacological Action of some common Essential oil-bearing Plants used in indogenous Medicine. Part I.
Ind. Jour. Med. Res. 42, 381-384 (1954)

DAS, P.K.; MALHOTRA, C.L.; DHALLA, N.S.: Spasmolytic Activity of Asarone and Essential oil of Acorus Calamus L.
Arch. int. Pharmacodyn. 135, (1-2), 167-177 (1962)

DELPHAUT, M.J.: Recherches pharmacodynamiques dans la série valérianique
Ann. pharm. franc. 14 710-714 (1956)

DHAR, V.J.; MATHUR, V.S.; GARG, S.K. Pharmacological Studies on Daucus carota. Part I.
Planta medica 28 (1), 12-15 (1975)

EICHHOLTZ, F. Lehrbuch der Pharmakologie
8. Auflage 1955, Springer Verlag Berlin

ERHART, G.; RUSCHIG, H.: Arzneimittel - Entwicklung, Wirkung, Darstellung
2. Aufl. 1972, Verlag Chemie Weinheim

FORTH, W.; HENSCHLER, D.; RUMMEL, W.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
2., überarbeitete und erweiterte Auflage, Bibliographisches Institut Mannheim

GAMES, P.A.: An improved t-Table for Simultaneous Controll on g contrasts
J. Amer. Stat. Ass. 72, 531-534 (1977)

GESSNER, O.: Die Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa
2. Auflage 1953, Winter Universitätsverlag, Heidelberg

GHOSAL, S.; DUTTA, S.K.: Arundo donax L. (Graminae). Phytochemical and Pharmacological Evaluation
J. med. Chem. 12 (3), 480-483 (1969)

GLASL, H., WAGNER, H.: Kamillenblüte - Eine neue Wertbestimmung der Kamillendroge und ihrer Zubereitungen
Dtsch. Apoth.-Ztg. 116, 45-50 (1976)

HAFTER, E.: Praktische Gastroenterologie
6. Auflage 1978, Thieme Verlag Stuttgart

HELWIG, B.: Moderne Arzneimittel
3. Auflage 1973, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart

HOFF, F.: Klinische Physiologie und Pathologie
6. Auflage 1962, Thieme Verlag Stuttgart

HOLUB, M.; HEROUT, V.; ŠORM, F.: Synthese von α-Bisabolol - spasmolytisch wirksamer sesquiterpenischer Alkohol
Československá farmacie 3, 129 - 131 (1955)

HOPPE, H.A.: Drogenkunde Band 1 Angiospermen
8. Auflage 1975, de Gruyter Berlin

KAKU, T.; MIYATA, T.; URUNO, T.; SAKO, I; KINOSHITA, A.: Chemico-pharmakological Studies on Saponins for Panax ginseng C.A. Meyer. II. Pharmacological part
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 25, 539-547 (1975)

KREBS, H.A.; HENSELEIT, K.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 210, 33-66 (1932)

KREITMAIR, H.: Matricaria chamomilla L. - die echte Kamille
Pharm. 6, 65-66 (1951)

KUSCHINSKY, G.: Taschenbuch der modernen Arzneibehandlung
6. Auflage 1973, Thieme Verlag Stuttgart

KUSCHINKSKY, G.; LINDMAR, R.; WOLLERT, U.: Kurs der Allgemeinen Pharmakologie und Toxikologie
1. Auflage 1974, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart

MADAUS, G.: Lehrbuch der biologischen Heilmittel
1938; Thieme Verlag Leipzig

MAGNUS, R.: Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugethieren
Pflügers Archiv ges. Physiol. 102, 123-151 (1904)

MUTSCHLER, E.: Arzneimittelwirkungen
3. Auflage 1975, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart

PHARMACOLOGICAL EXPERIMENTS ON ISOLATED PREPARATIONS
Hrsg. The staff of the Department of Pharmacology, University of Edinburgh
1970, Livingstone Edingburgh

PÖCH, G.; UMFAHRER, W.: Differentation of intestinal smooth muscle relaxation caused by drugs that inhibit phosphodiesterase
Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol. 293, 257-268 (1976)

PROSSER, C.L.: Smooth muscle
Ann. Rev. Physiol. 36 505-535 (1974)

ROSECRANS, A.J.; DEFEO, J.J.; YOUNGKEN, H.W.: Pharmacological Investigation of certain Valeriana officinalis L. Extracts
J. Pharm. Sci. 50, 240-244 (1961)

van ROSSUM, J.M.: The relation between chemical structure and biological activity
J. Pharm. Pharmakol. 15, 285-316 (1963)

van ROSSUM, J.M.; van den BRINK, F.G.: Cumulative Dose-Response Curves. I. Introduction to the technique
Arch. int. Pharmacodyn. 143, 240-246 (1963)

van ROSSUM, J.M.; HURKMANS, J.A.Th.M.; WOLTERS, C.J.J.: Cumulative Dose-Response Curves. II. Technique for the making of dose-response curves in isolatet organs and the evaluation of drug parameters
Arch. int. Pharmacodyn. 143, 299-330 (1963)

SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden
3. Auflage 1973, Springer Verlag Berlin

SCHAETTE, R.: Zur Wertbestimmung, Pharmakologie und umweltbedingtenWirkstoffbildung von Radix Valerianae
Dissertation München 1971

SCHNEIDER, M.: Einführung in die Physiologie des Menschen
16. Auflage 1973, Springer Verlag Berlin

SCHUSTER, K.P.: Wirkungsstärke und Wirkungsverluste spasmolytisch wirksamer Arzneidrogen, galenischer Zubereitungen und Arzneifertigwaren, geprüft am isolierten Darm des Meerschweinchens und am Darm der Katze in situ
Dissertation München 1971

SOMLYO, A.P., SOMLYO, A.V.: Vascular smooth muscle.
2. Pharmacology of normal and hypertensive vessels
Pharmacol. Rev. 22, 249-353 (1970)

STOLL, A.; SEEBECK, E.; STAUFFACHER, D.: Isolierung und Charakterisierung von bisher unbekannten Inhaltsstoffen aus dem Neutralöl des frischen Baldrians
Schweiz. Apoth.-Ztg. 95, 115-120 (1957)

STURDE, H.-C.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Prostaglandine und ihre Beziehungen zur männlichen Fertilität
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 18, 895-900 (1968)

WEISS, R.F.: Lehrbuch der Phytotherapie
3. Auflage 1974, Hippocrates Verlag Stuttgart

WINNE, D.: Zur Auswertung von Versuchsergebnissen: Die verteilungsfreien Rangteste von Wilcoxon
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 14, 119-121 (1964)

WINNE, D.: Zur Auswertung von Versuchsergebnissen
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 17, 93-97 (1967)

WISSENSCHAFTLICHE TABELLEN - DOCUMENTA GEIGY
7. Auflage 1973, Geigy Pharmazeutika, Wehr (Baden)

# Lebenslauf

Am 13. Juli 1948 wurde ich, Hubert Balthasar Forster, als dritter Sohn des Bundesbahnbetriebssekretärs i.R. Hermann Forster und seiner Ehefrau Leny, geb. Mayer, in Mindelheim (Schwaben) geboren.

Meine Einschulung in die Volksschule Mindelheim erfolgte im Herbst 1954. Nach 4 Jahren trat ich in das Maristenkolleg Mindelheim über, dessen naturwissenschaftlichen Zweig ich bis zur Reifeprüfung im Juli 1968 besuchte.

Am 1. September 1968 begann ich in der Neuen Apotheke Mindelheim das Pharmazeutische Praktikum. Die pharmazeutische Vorprüfung legte ich im September 1970 vor dem Prüfungsausschuß in Augsburg ab. Bis zu meiner Zulassung zum Pharmaziestudium arbeitete ich in einer Apotheke in Düsseldorf. Im Sommersemester 1971 nahm ich das Studium der Pharmazie an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen auf, das ich im April 1974 mit der pharmazeutischen Staatsprüfung abschloß.

Nach vorübergehender Tätigkeit in der Apotheke begann ich im Oktober 1974 bei Herrn Prof. Dr. med. H.P.T. Ammon am Lehrstuhl Pharmakologie des Pharmazeutischen Instituts Tübingen mit vorliegender Dissertation.

Von Oktober 1974 bis März 1977 war ich dort als wissenschaftliche Hilfskraft tätig. Seit April 1977 arbeite ich in der Apotheke meiner Frau Dorothee, geb. Hansel. Unsere Eheschließung erfolgte im Mai 1975.

Meine akademischen Lehrer, außer Prof. Dr. H.P.T. Ammon waren die Herren Professoren:
H. Auterhoff, E. Graf, K.A. Kovar, F. Moll (Pharmazie)
E. Reinhard (Pharmazeutische Biologie)
E. Müller, W. Rüdorff (Chemie)
R.E. Bader (Bakteriologie und Hygiene)
H. Krüger, H. Seiler (Physik)
M. Siess (Pharmakologie)

Anmerkung:
Herrn Prof. Dr. D. Winne danke ich für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung der vorliegenden Daten.
Weiterhin danke ich der Firma Chemische Fabrik Dr. Hetterich KG, Fürth/Bay. für die Überlassung der Pflanzenextrakte.